

**UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON 1**

**U.E.R. DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE SAINT-ETIENNE**

**(Application de la convention du 10 mai 1974)**

**Année 1977 - N 468**

**CONTRIBUTION DES TECHNIQUES DE CYTOGENETIQUE  
AU DIAGNOSTIC DES PLEURESIES MALIGNES**

**A propos de 202 cas**

**Laboratoire de cytogénétique  
Centre de Transfusion Sanguine de Saint-Etienne  
Docteur J. FRAISSE - Professeur Agrégé C.P. BRIZARD  
Service de Pneumo-phtisiologie - C.H.U. de Saint-Etienne  
Docteur J. BERARD**

**THESE**

**présentée**

**à l'Université Claude-Bernard - LYON**

**et soutenue publiquement le 24 Octobre 1977**

**pour obtenir le grade de Docteur en Médecine**

**par**

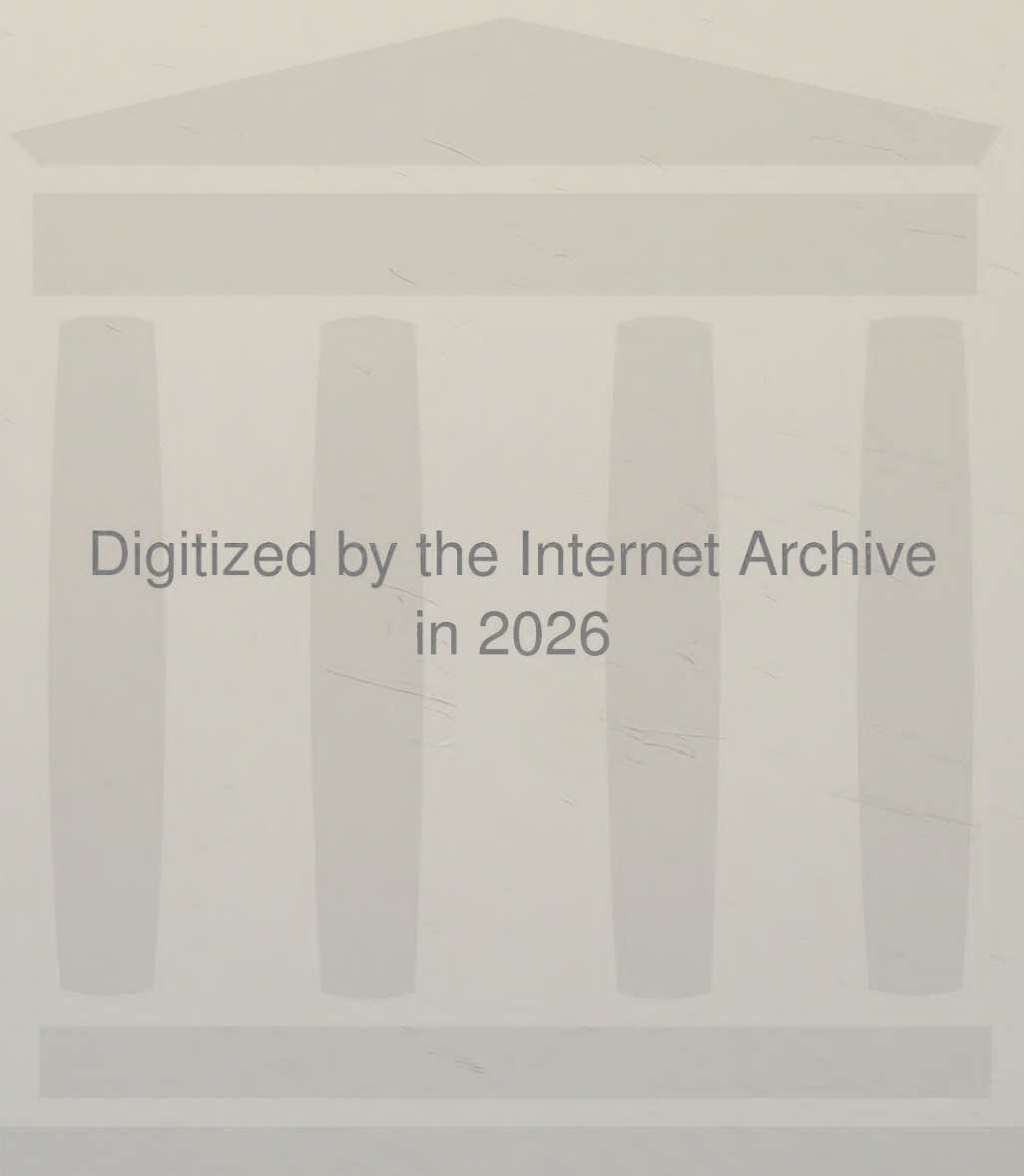
**BURLAT Marc**

**né le 10 mai 1949**

**à Saint-Didier-en-Velay (Haute-Loire)**







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41553606\\_0003](https://archive.org/details/IA41553606_0003)

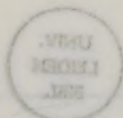
(Application de la convention du 10 mai 1974)

Année 1977 - N 468

**CONTRIBUTION DES TECHNIQUES DE CYTOGENETIQUE  
AU DIAGNOSTIC DES PLEURESIES MALIGNES**

A propos de 202 cas

Laboratoire de cytogénétique  
Centre de Transfusion Sanguine de Saint-Etienne  
Docteur J. FRAISSE - Professeur Agrégé C.P. BRIZARD  
Service de Pneumo-phtisiologie - C.H.U. de Saint-Etienne  
Docteur J. BERARD



Thèse

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 24 octobre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

**BURLAT Marc**

né le 10 mai 1949

à Saint-Didier-en-Velay (Haute-Loire)

(Application de la convention du 10 mai 1974)

Année 1977 - N° 468

CONTRIBUTION DES TECHNIQUES DE CYTOGÉNÉTIQUE  
AU DIAGNOSTIC DES PLEURÉSIES MALIGNES

A propos de 285 cas

Laboratoire de cytogénétique  
Centre de Transfusion Sanguine de Saint-Etienne  
Docteur J. FRAISSE : Professeur Agrégé C.P. BRIZARD  
Service de Pneumologie - C.H.U. de Saint-Etienne  
Docteur J. BERNARD



Thèse

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 24 octobre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

BURLAT Marc

né le 10 mai 1949

à Saint-Dizier-en-Val (Haute-Loire)

Président : M. le Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : M. le Professeur E. ELBAZ

Deuxième Vice-Président :

Troisième Vice-Président : M. H. BONNET, étudiant

Secrétaire Général de l'Université : M.J. RAMBAUD, Administrateur Civil.

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE (U.E.R.)

|                                         |                                            |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------|
| U.E.R. médicale GRANGE-BLANCHE          | : M.B. SALLE, Maître de Conférences Agrégé |
| U.E.R. médicale ALEXIS-CARREL           | : M. le Professeur C. GIROD                |
| U.E.R. médicale LYON-NORD               | : M. le Professeur J.P. GARIN              |
| U.E.R. médicale SUD-OUEST               | : M. le Professeur J.M. ROBERT             |
| U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques     | : M. le Professeur L. ODDOUX               |
| U.E.R. des Sciences Odontologiques      | : M. le Professeur R. VINCENT              |
| U.E.R. des Techniques de Réadaptation   | : M. A. MORGON, Maître de Conférences      |
| U.E.R. de Biologie Humaine              | : M. le Professeur J.C. CZYBA              |
| U.E.R. d'Education Physique et Sportive | : M. A. MILLON, Professeur d'E.P.S.        |
| U.E.R. de Mathématiques                 | : M. le Professeur H. BUCHWALTER           |
| U.E.R. de Physique                      | : M. le Professeur R. UZAN                 |
| U.E.R. de Chimie et Biochimie           | : M. le Professeur J. HUET                 |
| U.E.R. des Sciences de la Nature        | : M. le Professeur J. BRUN                 |
| U.E.R. de Sciences Physiologiques       | : M. R. FONTANGES, Maître de Conférences   |
| U.E.R. de Physique Nucléaire            | : M. le Professeur M. GUSAKOW              |
| U.E.R. de Mécanique                     | : M. le Professeur J. MATHIEU              |
| Observatoire de LYON                    |                                            |
| I.U.T. 1                                | : M. le Professeur B. POUYET               |
| I.U.T. 2                                | : M. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.          |

- UNIVERSITE DE SAINT-ETIENNE -

=====

Président : M. François THOMAS

Secrétaire Général : M. Raymond ROUQUAIROL

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE (U.E.R.)

|                                         |                                  |
|-----------------------------------------|----------------------------------|
| U.E.R. de Droit                         | : M. ROBERT André                |
| Institut Universitaire de Technologie   |                                  |
| U.E.R. des Lettres et Sciences Humaines | : M. CAUME Maxime                |
| U.E.R. de Médecine                      | : M. le Docteur LACOUR Jean-René |
| U.E.R. des Sciences                     | : M. MONTHEARD Jean-Pierre       |
| U.E.R. des Sciences Economiques         | : M. MIFSUD Pierre               |



Responsable d'Enseignement

(Collège A)

1er CYCLE

Anatomie ..... Monsieur le Professeur CUILLERET Jacques  
Chimie-Biochimie ..... Monsieur le Professeur FREY Jacques  
Physiologie ..... Monsieur le Professeur LACOUR Jean-René  
Monsieur COUDERT Jean M.C.A.

2ème CYCLE

Anatomie Pathologique ..... Monsieur BARIL Alexandre M.C.A.  
Anesthésiologie ..... Monsieur VIGNON Henry M.C.A.  
Bactériologie-Virologie ..... Mme GAUDIN Odette M.C.A.  
Cardiologie ..... Monsieur VERNEYRE Henri M.C.A.  
Chirurgie Générale ..... Monsieur MELEY Jean M.C.A.  
Chirurgie Pédiatrique ..... Monsieur CHAVRIER Yves M.C.A.  
Dermatologie-Vénérologie ..... Monsieur DUVERNE Jean M.C.A.  
Gynécologie et Obstétrique ..... Monsieur LA SELVE Antoine M.C.A.  
Hématologie, Maladies du Sang ... Monsieur BRIZARD Charles M.C.A.  
Hépatologie-Gastro-Entérologie .. Monsieur FRAISSE Henri M.C.A.  
Médecine Interne ..... Monsieur POTTON François M.C.A.  
Médecine Préventive-Hygiène ..... Monsieur le Professeur RIFFAT Georges  
Médecine du Travail ..... Monsieur CABAL Christian M.C.A.  
Néphrologie ..... Monsieur BERTHOUX François M.C.A.  
Neurochirurgie ..... Monsieur DECHAUME Jean-Pierre M.C.A.  
Neurologie ..... Monsieur MICHEL Daniel M.C.A.  
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie  
plastique et reconstructive . Monsieur BOUSQUET Gilles M.C.A.  
Pédiatrie, Génétique Médicale ... Monsieur le Professeur FREYCON Fernand  
Monsieur LAURAS Benoît M.C.A.  
Psychiatrie d'adultes ..... Monsieur PELLET Jacques M.C.A.  
Radiologie ..... Monsieur RUBET Alain M.C.A.  
Thérapeutique, Réanimation médicale  
Rééducation fonctionnelle, Hydrologie Monsieur QUENEAU Patrice M.C.A.  
Ophtalmologie ..... Monsieur MAUGERY Jean M.C.A.



A la mémoire de mes grands-parents maternels.

A mon grand-père paternel.

A mes parents

*avec toute mon affection.*

A Marie-Thérèse et à Bénédicte

*auxquelles je dédie cette thèse.*

A tous mes amis.



A notre président de thèse

Monsieur le Professeur D. GERMAIN.

*Il nous a fait le grand honneur d'accepter  
la présidence de cette thèse.*

*Nous le remercions pour la cordialité de son  
accueil, et les moments qu'il a bien voulu nous accorder  
pour l'élaboration finale de cet ouvrage.*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de  
notre gratitude et de notre profonde reconnaissance.*



A nos juges

Monsieur le Professeur P. GALY

*Nous avons su apprécier l'immensité de ses connaissances et la qualité de son enseignement dans le cadre du certificat de pneumo-phtisiologie.*

*Nous le remercions de l'amabilité avec laquelle il a accepté de juger notre travail et l'assurons de notre gratitude et de notre profond respect.*

Monsieur le Professeur agrégé J. BRUNE

*Nous avons été touchés par l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail.*

*Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profonde reconnaissance.*

Monsieur le Professeur agrégé C.P. BRIZARD

*Nous avons eu la chance de compter parmi ses élèves. La clarté de son enseignement et la démarche diagnostic qu'il a su nous inculquer, l'intérêt qu'il savait provoquer, ont permis de nous initier à l'hématologie.*

*Nous le remercions bien sincèrement et l'assurons de notre gratitude et de notre profonde reconnaissance.*



A Monsieur le Docteur J. BERARD

*Par l'intérêt toujours soutenu qu'il a manifesté au développement de la cytogénétique, il a permis la réalisation de cet ouvrage.*

*Nous avons su apprécier son humanisme et sa bonne humeur.*

*C'est à lui que nous devons de nous orienter vers la pneumo-phtisiologie.*

*Qu'il soit assuré de notre gratitude et du respect que nous lui témoignons.*

A Madame le Docteur J. FRAISSE

*A nulle autre personne qu'elle, nous ne pourrions mieux appliquer l'adjectif disponible. Elle nous a toujours reçu, écouté et conseillé et sa clairvoyance nous a été très utile.*

*Sa réputation de cytogénéticienne n'est plus à faire.*

*Qu'il nous soit permis de lui rendre hommage pour son dévouement à toutes les familles frappées par les affections génétiques.*



A Monsieur le Docteur EMONOT

*Il nous a inspiré ce travail et nous a aidé pour la partie clinique. Ayant été durant un an son élève, nous avons apprécié son sens clinique et sa cordialité dans le travail.*

*Nous tenons à lui exprimer ici toute notre gratitude et nos remerciements.*

A Monsieur le Docteur ODE

*Sa gentillesse est connue de tous.*

*Nous le remercions vivement de nous avoir enseigné tout au long de cette année la fibroscopie bronchique.*

*Qu'il veuille trouver ici le témoignage de notre reconnaissance.*



A mes maîtres d'externat à Saint-Etienne

Monsieur le Docteur F. MAZAURIH

Monsieur le Docteur R. ACHARD

Monsieur le Docteur MALEYSSON

Monsieur le Docteur F. GEREST

Monsieur le Docteur J. BERARD

Monsieur le Docteur P. BAUQUIN

Monsieur le Professeur G. RIFFAT

Monsieur le Professeur agrégé H. VIGNON

A mon maître de stage interne

Monsieur le Docteur H. FULCHIRON



A toute l'équipe du Laboratoire de Cytogénétique

Mademoiselle CROZET

Ainsi que Mesdames CHEMIN, PRZYBYLSKI et VAVASSEUR

Nous les remercions vivement de  
leur accueil et de leur aide.



Contribution des techniques de cytogénétique  
au diagnostic des pleurésies malignes.

A propos de 202 cas

P L A N  
=====

- INTRODUCTION
- CHAPITRE I                    Rappel historique
- CHAPITRE II                Les apports de la cytogénétique moderne
  - 1 - Etude du caryotype constitutionnel normal.
  - 2 - Anomalies du caryotype constitutionnel
  - 3 - Anomalies chromosomiques acquises
- CHAPITRE III              Les critères chromosomiques de malignité
  - 1 - Anomalies de nombre : aneuploïdie
  - 2 - Anomalies de structure
- CHAPITRE IV              Les critères nucléaires : leur valeur
- CHAPITRE V                Méthodologie
  - 1 - Les malades
  - 2 - Les prélèvements
  - 3 - Les techniques cytogénétiques
  - 4 - L'observation au microscope
- CHAPITRE VI              Etude des pleurésies bénignes
  - 1 - Etude cytogénétique



- 2 - Etude cytologique
- 3 - Comparaison entre cytologie et cytogénétique.

## - CHAPITRE VII

### Etude des pleurésies malignes

- a - mésothéliomes
- b - métastases d'origine pulmonaire
- c - Métastases d'origine génitale
- d - Métastases d'origine digestive
- e - Métastases d'origine rénale
- f - Métastases d'origine diverse
- g - Localisation pleurale d'une hémopathie
- h - Etude des cas où le diagnostic est imprécis.
- i - Tableau récapitulatif.

## - CHAPITRE VIII

### Limites et complémentarité des méthodes cytogénétiques et cytologiques

- 1 - Pleurésies bénignes : population témoin
- 2 - Pleurésies malignes

## - CHAPITRE IX

### Etude des cas particuliers

- 1 - Les mésothéliomes
- 2 - Epanchements bénins au cours de néoplasies connues : cancers pulmonaires 4 cas.
- 3 - Epanchements survenant au cours d'une néoplasie de voisinage : 10 cas
- 4 - Polysérites
- 5 - Corrélation évolution, traitement et anomalies cytogénétiques
- 6 - Commentaires de certaines observations atypiques
- 7 - Cancer à évolution prolongée ou faux négatif



- CHAPITRE X                   Revue de la littérature

- CONCLUSIONS

- BIBLIOGRAPHIE



## I N T R O D U C T I O N

=====

Les anomalies chromosomiques de nombre et de structure sont pratiquement constantes dans les cellules néoplasiques. A l'inverse, les cellules de type inflammatoire gardent un équipement chromosomique normal.

C'est à partir de ces observations que dès 1960 l'analyse cytogénétique des cellules des liquides d'épanchement a pu être proposée en tant que moyen diagnostic.

Nous avons pratiqué l'examen systématique des épanchements pleuraux en couplant sur un même échantillon l'analyse cytologique classique et l'analyse cytogénétique.

249 dossiers ont été exploitables et la complémentarité des deux méthodes est mise en évidence

Nous exposerons dans ce travail nos méthodes, nos critères de diagnostic et nos résultats.

En conclusion nous retiendrons que l'apport des techniques de cytogénétique est franchement positif.

Les différentes publications récentes sont en accord avec les résultats obtenus dans nos laboratoires.



## C H A P I T R E    I

=====

### RAPPEL HISTORIQUE

Dès la fin du XIXème siècle, alors même que le nombre chromosomique des cellules humaines normales restait à déterminer, certains observateurs, dont VON HANSEMANN, mentionnaient les anomalies monstrueuses rencontrées dans les cellules néoplasiques, tant par le nombre que par la structure de leurs chromosomes.

En 1910, la théorie de la cancérogénèse exposée par BOVERI dans un ouvrage désormais classique, insistait sur le lien unissant anomalie chromosomique et cancer. Il travailla sur des oeufs d'oursins dont le nombre de chromosomes est peu élevé.

BOVERI(10) considérait comme un épiphénomène la cause externe qui entraînait l'anomalie chromosomique. Pour lui, le déséquilibre génique une fois établi dans une cellule, celle-ci se trouvait dotée de propriétés nouvelles. A partir d'une cellule unique, la maladie se développait. La notion de clone était d'ores et déjà établie.

Certes, il existait des anomalies monstrueuses directement repérables, mais parfois ces anomalies étaient en apparence fort discrètes. Pour BOVERI, une simple mutation survenant à l'échelon moléculaire, donc indécélable en microscopie optique, peut suffire à bouleverser le métabolisme cellulaire. Le clone malin existe alors même qu'il échappe à l'observation. L'auteur terminait son ouvrage en souhaitant que les progrès techniques permettent d'apporter les preuves de la véracité de sa théorie.

C'est en voulant améliorer les techniques d'étude des chromosomes des cellules néoplasiques humaines que LEVAN et TJIO (73), en 1956, découvraient



une méthode permettant la dispersion des chromosomes métaphasiques, après gonflement nucléaire.

Grâce à eux, en 1956, le caryotype humain normal était déterminé, et la cytogénétique prenait son essor.

La même année, HANSEN-MELANDER (35), travaillant sur des cellules d'un épanchement ascitique malin humain, découvraient des anomalies de nombre grossières, ainsi que des anomalies de structure des chromosomes dans ces mêmes cellules.

ISING et LEVAN (42), examinant des épanchements pleureux malins découvraient également des anomalies de nombre des chromosomes (accroissement), et de structure.

L'intérêt concernant les anomalies chromosomiques des tumeurs suscitait de nombreux travaux expérimentaux. Les études de MAKINO sont sans doute les plus nombreuses dans les dix années qui suivirent.

Cet auteur, en collaboration avec ISHIHARA (39), entreprit de démontrer que les anomalies chromosomiques étaient significatives dans les états de malignité, car elles sont absentes dans les épanchements pleuraux ou ascitiques, d'origine cardiaque, cirrhotique ou tuberculeuse.

Dès lors, plusieurs auteurs, dont JACOB (44), en 1961, et GOODLIN (30) en 1963, proposent l'analyse chromosomique comme moyen de diagnostic différentiel entre épanchement d'origine maligne et épanchement non malin.

Dans le cadre des affections hématologiques, une découverte majeure faite en 1960, valorisait la théorie chromosomique du cancer et apportait aux hypothèses de BOVERI une remarquable confirmation.

NOWELL et HUNGERFORD (62) étudiant des mitoses de cellules de la moëlle osseuse de sujets atteints de leucémie myéloïde chronique notent la



présence d'une altération de structure d'un chromosome du groupe G. Ce chromosome est porteur d'une délétion : une partie de ses bras longs est manquante. Les auteurs donnent à ce chromosome modifié le nom de chromosome de Philadelphie 1, d'après la ville où a eu lieu la découverte. Le  $Ph_1$  sera considéré comme un chromosome 21 en délétion.

Dix ans plus tard, les techniques se sont perfectionnées et grâce à l'utilisation de la moutarde à la quinaquine et de la fluorescence, CASPERSON (13) met en évidence des structures chromosomiques qui n'avaient jusqu'alors pu être observées. CASPERSON démontre ainsi que le  $Ph_1$  est en réalité un chromosome 22. Utilisant la technique de CASPERSON et d'autres techniques dites de dénaturation, ROWLEY quelques mois plus tard apporte une information complémentaire. Il ne s'agit pas d'une simple délétion d'un chromosome 22 mais d'une translocation 22-9. Le fragment perdu par le 22 se retrouve à l'extrémité des bras longs d'un chromosome 9. Ce fait sera rapidement confirmé et d'autres observations suivront. Si dans la plus grande majorité des cas on retrouve la translocation (22-9) dans certains cas la translocation a pu se faire sur un autre autosome (10% des cas environ). Le syndrome clinique typique reste le même.

Lorsque la maladie passe de la phase chronique à la phase aiguë il n'est pas rare de trouver une modification des mitoses : les cellules myéloïdes acquièrent un  $Ph_1$  supplémentaire : c'est la duplication. Des observations récentes montrent qu'il est fréquent de voir apparaître à ce stade un chromosome 8 surnuméraire : les cellules sont alors à 48 chromosomes. A l'anomalie de structure s'ajoute une anomalie de nombre.

Le  $Ph_1$  est synonyme de leucémie myéloïde chronique. On ne le retrouve pas dans les autres hémopathies. Il est bien la marque de l'affection. On peut donc parler de spécificité du  $Ph_1$ .

Le chromosome de Philadelphie est une anomalie acquise. On ne le retrouve que dans les cellules de la lignée myéloïde ; les lymphocytes, les fibroblastes conservent un caryotype normal.



La mutation a vraisemblablement touché une cellule souche, d'où le développement d'un clone ne comportant qu'une lignée cellulaire. Des arguments solides ont pu être apportés pour étayer cette hypothèse.

Cette mutation est-elle à l'origine de la maladie ?

On a pu parler jusqu'alors de translocation réciproque. Doit-on admettre un effet de position des gènes ou une destruction d'un gène au cours de l'accident, la perte de matériel ne pouvant actuellement être mise en évidence. La cassure des bras longs du 22, la translocation préférentielle sur le 9 posent également des problèmes.

Peut-on évoquer l'action d'un virus spécifique comparable à l'action de l'adénovirus 12 sur le chromosome 17 ? Doit-on considérer la possibilité de séquences d'ADN homologues sur différents chromosomes, réalisant des sites préférentiels pour l'action supposée d'un virus ?

Certes l'étude des hémopathies autres que la leucémie myéloïde chronique ne permet pas d'apporter des documents aussi précis. Cependant certaines anomalies se retrouvent identiques dans certains syndrômes: le chromosome 20 est parfois modifié dans la maladie de Vaquez ; le chromosome 14 spécifiquement allongé dans le lymphome de Burkitt etc ...

Dans les leucémies aiguës les remaniements sont souvent complexes mais certains remaniements s'observent avec une fréquence significative : trisomie 9, trisomie 8.

Toutes ces données ont été exposées récemment en détail dans un travail de D. GERMAIN, J. TANZER et N. PHILIPPE (28).

Si nous les rapportons ici c'est pour illustrer le cheminement des recherches sur les chromosomes des cellules néoplasiques.

Le schéma de la leucémie myéloïde chronique doit rester un modèle. Derrière des remaniements souvent complexes et variés peut se dissimuler un remaniement primaire constant et spécifique d'un néoplasme donné.



Il est nécessaire de multiplier les observations de mitoses chez un même malade, puis chez plusieurs malades atteints d'une même affection.

L'emploi des techniques d'analyse des structures fines est impératif. Un éventail de ces techniques doit être appliqué à chaque cas. Les échecs en cancérologie sont malheureusement plus nombreux que les succès. Le matériel d'étude n'est pas toujours abondant, le plus souvent fragile et altéré.

Cependant une bonne iconographie réalise une base d'étude.

Des perspectives nouvelles s'ouvrent grâce au développement des cartes chromosomiques.

A partir de l'hybridation cellulaire homme-souris il est possible dans un premier temps, de localiser un gène codant une enzyme particulière sur un chromosome donné.

Les anomalies chromosomiques constitutionnelles (délétion ou trisomie partielles) sont enfin utilisées comme outils d'exclusion ou de localisation du gène en un point défini d'un bras chromosomique. (Dosages orientés de certains enzymes).

Il n'est pas utopique de penser que l'on pourra dans un avenir proche mettre en parallèle remaniements chromosomiques, modifications enzymatiques : ce serait un grand pas de franchi vers la physiopathologie.

Le travail que nous présentons ici a des prétentions beaucoup plus modestes : nous nous bornerons à utiliser les observations d'anomalies chromosomiques des cellules des liquides d'épanchement dans un but défini : celui du diagnostic de malignité.

L'expérience du laboratoire de cytogénétique du Centre de Transfusion Sanguine de Saint-Etienne est basée, à ce jour, sur l'examen de 1042 liquides d'épanchement, soit liquides d'ascites soit liquides pleuraux. Une première présentation des résultats dans le cadre des liquides pleuraux a



été faite dans la thèse de MONTARRY inspirée par J. BERARD en 1973 (57). Les liquides d'ascites ont été regroupés dans la thèse de Solange PEILLON (1977), inspirée par H. FRAISSE (67).

Peu de travaux ont été consacrés à ce sujet. Les seules études statistiques ont été publiées par des auteurs travaillant aux Etats-Unis BENEDICT et PORTER en 1972 : 42 cas et récemment DEWALD (1976) : 104 cas.

Cette dernière publication sera analysée ultérieurement, elle concerne exclusivement des liquides pleuraux et les méthodes utilisées par l'auteur sont identiques aux nôtres.

Avant d'aborder l'exposé de nos méthodes et de nos résultats, nous nous proposons de rappeler quelques données classiques de cytogénétique : morphologie des chromosomes et techniques d'étude. Nous envisagerons rapidement les anomalies constitutionnelles avant d'aborder le problème des anomalies acquises et le rôle de certains agents agressifs.



## C H A P I T R E    I I

=====

### LES APPORTS DE LA CYTOGENETIQUE MODERNE

Nous aborderons très brièvement les méthodes utilisées pour l'établissement du caryotype constitutionnel en technique standard et en technique des bandes. Ces méthodes étant devenues communes.

Nous détaillerons davantage dans le chapitre V les modifications utilisées pour nos études des cellules de liquides d'épanchement.

#### I - ETUDE DU CARYOTYPE CONSTITUTIONNEL NORMAL

L'étude du caryotype constitutionnel est aisée : les cellules en division peuvent être obtenues par culture de lymphocytes du sang périphérique stimulés par un antigène non spécifique : la phytohémagglutinine.

Après 72 heures dans un milieu de culture placé à l'étuve à 37°, on obtient un nombre de mitoses considérable.

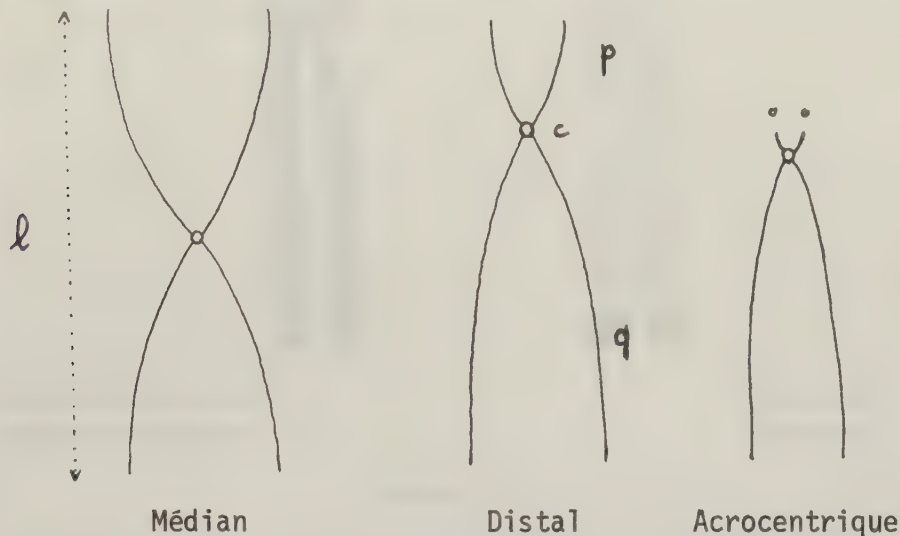
L'adjonction de colchicine bloque toutes les mitoses en métaphase.

Le choc hypotonique permet d'obtenir un gonflement de la membrane nucléaire et une dispersion convenable des chromosomes. La fixation par l'alcool acétique, puis l'étalement minutieux sur des lames réfrigérées donnent des préparations de bonne qualité, observables au microscope après simple coloration au Giemsa.

Les chromosomes sont identifiables par observation au microscope optique si le technicien est entraîné.



Chacune des 23 paires a une morphologie qui lui est propre : longueur relative du chromosome, position du centromère qui détermine les chromosomes médians, distaux ou acrocentriques.



l = longueur totale  
c = centromère  
p = bras court  
q = bras long

Schéma n° 1

Le comptage est aisé sur de bonnes préparations. Une première constatation s'impose : le caryotype humain est remarquablement stable : 46 chromosomes de morphologie définie.

Depuis 1972, des techniques dites techniques de dénaturation ou techniques des bandes, ont été découvertes.

Elles précisent la structure fine des chromosomes et révèlent une physionomie propre à chaque paire chromosomique.

Les chromosomes précédemment classés en 7 groupes (DENVER classification 1960), peuvent être nomenclaturés précisément par le numéro de leur paire, de 1 à 22 pour les autosomes, plus les gonosomes X et Y.

Des chromosomes de même taille et ayant un centromère situé dans la même zone, étaient jusqu'alors indiscernables. Exemple : chromosome 4 et 5 constituant le groupe B. La disposition des bandes permet actuellement



de les distinguer aisément l'un de l'autre.



Technique standard



Bande R.



Schéma n° 2

Nous ne détaillerons pas ici les techniques de bandes, longues et complexes, et qui sont décrites dans des ouvrages spécialisés : DUTRILLAUX, GROUCHY.

Nous nous contenterons de définir les plus classiques dans l'ordre chronologique de leur découverte.

1° - CASPERSON : bandes Q (14)

L'auteur utilise un agent alkylant, la moutarde à la quinacrine.

Les lames sont observées en lumière ultra-violette. Les bandes apparaissent alternativement brillantes et sombres. Leur taille et leur situation sont spécifiques à chaque paire chromosomique.

2° - ARRIGHI et HSU, YUMIS (1) : bandes C

Les lames sont plongées dans une solution saline portée à une température voisine de 90°, puis colorées au Giemsa.

Les régions centromériques apparaissent en violet.



3° - DUTRILLAUX : bandes R.

R comme Reverse (inverse).

Utilisation de solution de Earle, à la température de 87°, pendant des temps variables, 30' à 120'. Coloration au Giemsa.

Les bandes sont alternativement claires et sombres. Disposition identique mais coloration inverse des bandes Q.

4° - SUMMER bandes G

G comme Giemsa.

L'acide est utilisé comme dénaturant.

Les bandes obtenues sont l'inverse des bandes R. L'acide est difficile à manier.

5° - GROUCHY et FINAZ  
BERGER  
SEABRIGHT

Ils obtiennent des bandes G plus sélectives soit par l'utilisation d'enzymes, soit par l'urée.

6° - L'utilisation de certains produits agissant sur la cinétique de réplication de l'ADN tel le bromodexoxyuridine, couplé à une coloration à l'acridine orange, et l'examen en lumière ultra-violette, sont des techniques sophistiquées, mais donnant des résultats très intéressants, dans l'étude des chromosomes X en particulier.

L'application de ces différentes techniques marque un progrès énorme, et permet en particulier de mettre en évidence, des anomalies de structure chromosomique.



## 2 - ANOMALIES DU CARYOTYPE CONSTITUTIONNEL

Le matériel héréditaire transmis par les cellules germinales peut subir des modifications :

- mutations géniques : non repérables en microscopie optique, mais entraînant chez l'individu porteur de maladies métaboliques graves, des histodysplasies ou des morphodysplasies.

- mutations chromosomiques : repérables au microscope : modification grossière d'un ou de deux chromosomes :

- . perte (délétion) ou gain (translocation), d'un fragment résultant de cassure accidentelle.
- . échanges de fragment entre deux chromosomes non homologues, réalisant des translocations équilibrées
- . Inversions : 2 cassures sur un même chromosome avec rotation de  $180^\circ$  du fragment.

Ces anomalies structurales ne sont pas les seules : des erreurs de distribution du patrimoine génétique peuvent se produire lors de la gamétogénèse, ou même lors de la fécondation. Ce sont les anomalies de nombre.

Les anomalies sont ici d'une telle importance qu'elles conduisent le plus souvent à une fausse-couche. Certaines cependant sont viables : la plus fréquente étant la trisomie 21 ou mongolisme.

Dans le cadre des anomalies gonosomiques, il faut citer la perte d'un gonosome déterminant le syndrome de TURNER (45X0), ou le gain d'un ou plusieurs gonosomes : gonosome X:Klinefelter et variantes 47XXY, 48XXXYetc., gonosome Y:47XYY.

Parmi les anomalies chromosomiques constitutionnelles, on doit citer enfin des anomalies plus diffuses telle la fragilité chromosomique. Certains individus réagissent moins bien que d'autres aux agents agressifs de l'environnement, et le mécanisme de réparation des fibres d'ADN rompues, sem-



ble déficient. En microscopie optique, des lacunes sont visibles sur les chromatides, les cassures chromosomiques sont fréquentes, on trouve des fragments isolés, les chromosomes lésés ont tendance à se rapprocher, créant des images très particulières.

Ce type d'anomalie peut s'observer dans les lymphocytes des malades atteints d'anémie de Fanconi, de xeroderma pigmentosum, de syndrome de Bloom, d'ataxie telangectasie.

Si nous avons évoqué dans ce chapitre les anomalies constitutionnelles, soit par déséquilibre chromosomique, soit par fragilité chromosomique, c'est parce que les statistiques sont probantes : les sujets présentant de telles anomalies sont plus que d'autres susceptibles d'évoluer vers la maladie cancéreuse.

### 3 - ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ACQUISES

La stabilité du génome est habituelle, mais certains agents appelés agents clastogènes ont le pouvoir de créer des lésions au niveau des chromosomes : cassures plus ou moins complètes repérables sous formes de lacunes ou de fragments.

Ces agents sont bien connus tant par les observations cliniques que par les travaux expérimentaux.

#### a) Les radiations ionisantes

Elles entraînent des lésions chromosomiques ou chromatidiennes suivies parfois de recolllements anarchiques créant des éléments de morphologie inhabituelle Mouriquand C. (61).

Des expériences in vitro ont prouvé que les dégâts chromosomiques étaient grossièrement proportionnels aux doses des radiations.

#### b) Les agents chimiques

Les substances chimiques nocives pour le matériel chromosomique



sont nombreuses. Leur rôle a été particulièrement étudié par STAHL et LUCIANI. Elles peuvent agir sur la réplication de l'ADN ou directement sur les chromosomes lacunes cassures, pulvérisations. Ces propriétés sont utilisées en thérapeutique dans le cadre des néoplasies. GROUCHY (33) a pu montrer l'action agressive de la Rubidomycine sur des lymphocytes de malades traités par cet agent.

### c) Les virus

La pénétration de certains virus au niveau des noyaux des cellules entraîne également des lésions pouvant aller de la cassure isolée à la pulvérisation totale des chromosomes.

L'étude des chromosomes de sujets atteints de rubéole illustre aisément cette action in vivo. Des travaux expérimentaux utilisant l'adeno virus 12, ont montré l'action cassante de ce virus hautement oncogène : les cassures, les lacunes uni ou bichromatidiennes sont fréquentes ; par contre on ne trouve pas d'anneaux ni de chromosomes dicentriques. En 1972 Mac DOUGALL (53) précisait l'atteinte spécifique par l'adénovirus 12 du chromosome 1 et du chromosome 17 dans le cadre des cultures de lymphocytes humains. Une atteinte ponctuelle du 17 permet de conclure à l'affinité de virus pour le locus codant la thymidine kinase.

Le virus type SV 40 semble fragiliser préférentiellement les régions dites hétérochromatiques des chromosomes 1.9.16.

Enfin, les relations entre anomalies chromosomiques du lymphome de Burkitt et la présence du virus d'Epstein Barr suscitent actuellement de nombreux travaux.

Une théorie virale du cancer se développe, le virus pouvant remplir le rôle déclenchant supposé par Boveri en créant un déséquilibre génique.



Les anomalies chromosomiques grossières constatées au niveau des tumeurs et des cellules métastatiques sont une conséquence du désordre primaire qui a pu passer totalement inaperçu.

Le rôle des radiations dans la cancérogénèse est également bien établi : radiodermite des premiers radiologues insuffisamment protégés évoluant vers des épithéliomas, leucémies statistiquement plus élevées chez les sujets ayant été soumis à des irradiations. (Hiroshima).

Enfin, les substances chimiques peuvent avoir des propriétés cancérigènes : nitrosamine, benzopyrène ...

La complexité du problème de la cancérogénèse apparaît une fois encore. Un sujet normal soumis à des agressions clastogènes peut voir naître dans son organisme des cellules modifiées capables de créer la maladie cancéreuse.

Un sujet atteint d'une anomalie déséquilibrée constitutionnelle sera plus qu'un autre sensible à un processus néoplasique. (statistiques classiques des mongoliens faisant une leucémie myéloblastique).

Enfin, il est bien admis que les sujets présentant une fragilité chromosomique constitutionnelle, comme dans le cadre de l'ataxie telangectasie, du xeroderma pigmentasum, du syndrome de Bloom, sont particulièrement exposés à une évolution maligne.



## CHAPITRE III

=====

### LES CRITERES CHROMOSOMIQUES DE MALIGNITE

Deux types de critère sont généralement admis :

- les anomalies de nombre
- les anomalies de structure.

#### I - ANOMALIES DE NOMBRE : ANEUPLOIDIE

##### 1 a) L'hyperploïdie anarchique

La cellule diploïde normale comporte 46 chromosomes. Dès que le chiffre 46 est dépassé, on peut parler d'hyperploïdie. Le degré d'hyperploïdie est variable :

- proches de 46 : hyperdiploïdies
- chiffres au-delà de 50 : hyperploïdies
- enfin, les hyperploïdies majeures au-delà de 80 et pouvant dépasser 500 chromosomes

Les comptages chromosomiques précis sont souhaitables. Ils peuvent mettre en évidence au sein d'une population dispersée un groupe de cellules comportant un nombre identique de chromosomes. Ce groupe homogène représente ce qu'on appelle le nombre modal.

Nous avons employé le terme d'hyperploïdie anarchique : en effet, il est bon de distinguer les cellules triploïdes, à 69 chromosomes et les tétraploïdes à 92 chromosomes dont le caryotype est équilibré, des hyperploïdies anarchiques. Les cellules triploïdes ou tétraploïdes sont liées à un trouble de la division cellulaire, et peuvent se rencontrer lors des processus inflammatoires bénins.



L'hyperploïdie anarchique peut respecter un chiffre normal. ex : 92, mais certaines paires chromosomiques sont absentes et, par contre, des éléments souvent non identifiés sont présents.

L'hyperploïdie anarchique répétée constitue à elle seule un critère absolu.

#### 1 b) Les hypoploïdes

Les mitoses sont dites hypoploïdes quand le nombre des chromosomes est inférieur à 46. Parfois proche de la diploïdie, elles sont souvent très inférieures, à 25-30 chromosomes.

Elles doivent être particulièrement étudiées. En effet, le choc hypotonique peut créer un artéfact possible même en culture ordinaire (lors des cultures cellulaires constitutionnelles), en occasionnant une dispersion excessive des chromosomes et la perte de certains d'entre eux.

Dès lors, s'agit-il d'un artefact ou d'une condition particulière de la mitose ?

Si le nombre de mitoses est suffisamment important pour permettre la vérification d'un nombre modal établi, qui peut être associé à des pertes ou gains de plusieurs groupes, il s'agit effectivement d'un clone malin.

Mais la seule donnée isolée d'hypoploïdie ne peut constituer un critère absolu.

#### 1 c) Les pseudo-diploïdes

Les mitoses pseudo-diploïdes sont à 46. Elles sont rares, mais il faut être très prudent. Il peut y avoir possibilité de gain et de perte compensée. Exemple : perte d'un chromosome C, gain d'un chromosome G. Elles ne sont identifiables que par une analyse caryotypique minutieuse, qui, couplée à la technique des bandes permettra parfois la détection d'une anomalie structurale.

En présence de mitoses à 46 chromosomes d'apparence normale, on devra tenir compte de l'environnement nucléaire. La diploïdie à elle seule ne



constitue pas un argument d'exclusion de malignité.

Les éléments indéterminés sont facilement repérés. Ils sont porteurs d'anomalies de structure.

## 2 - ANOMALIES DE STRUCTURE

Elles représentent un excellent critère diagnostique de malignité.

Nous avons parlé précédemment des modifications que peuvent subir les chromosomes : translocation ou délétion. Pour être plus complet, il faut aussi parler de la formation :

- . des dicentriques par fusion télomérique de 2 chromosomes, ils sont instables.
- . des chromosomes minutes qui sont des fragments chromosomiques minuscules, ayant conservé un centromère et ils sont le plus souvent stables.
- . des anneaux formés par double délétion et recollement des extrémités, bras courts, bras longs, ils sont variables.
- . des accroissements de taille par duplication séquentielle.

Le chromosome modifié dans sa structure devient un élément inclassable. Sa morphologie ne cadre avec celle d'aucune paire déterminée. Les techniques de bandes rencontrent des séquences inconnues.

### Notion de marqueur :

Il est bon de préciser la notion de marqueur lequel constitue un critère absolu dans le diagnostic de la malignité.

On appelle marqueur tout chromosome ayant subi une modification de sa structure qui le rend repérable : il n'existe pas dans la cellule normale, mais on le retrouvera identique en simple ou parfois double exemplaire dans différentes mitoses. Il permet de définir l'existence d'une population cellulaire particulière : le clone malin.



Le marqueur appartient à un individu. Il personnalise en quelque sorte l'affection. COUTINHO (15) en 1975 souligne cette particularité. Le marqueur n'est pas le témoin d'une néoplasie affectant un organe déterminé ou ayant un type histologique défini.

Il semble bien en effet que si l'on excepte quelques observations concernant l'adénocarcinome ovarien, le marqueur ne peut être utilisé pour retrouver un type histologique.

Le marqueur est donc différent du variant commun.

Le variant commun dont le meilleur exemple reste le chromosome de Philadelphie est un marqueur, mais retrouvé chez tous les individus atteints d'une affection bien déterminée : la leucémie myéloïde chronique.

Il nous a semblé nécessaire d'apporter ces précisions pour définir les critères que nous avons retenus. Nous verrons que les auteurs comme MILES (56) ayant confondu marqueur et variant commun n'ont pu utiliser de façon correcte leurs résultats pour établir un diagnostic de malignité.

Dans le cadre des anomalies de structure, comme dans celui des anomalies de nombre, il faut également s'assurer de certaines précautions pour une interprétation correcte.

Nous avons vu le rôle des agents clastogènes qui sont capables de créer des modifications chromosomiques :

1 - Les affections virales entraînent des pulvérisations chromosomiques, mais seules quelques cellules sont atteintes et le contingent comporte, soit de nombreuses cellules diploïdes normales, soit des cellules porteuses de cassures nombreuses. Dans tous les cas, il n'y a pas de marqueurs. Les anomalies sont réparties "au hasard".

2 - Les radiations ionisantes entraînent aussi des cassures, des lacunes, des récombinaisons nombreuses avec la présence très fréquente d'anneaux



(exceptionnels dans les atteintes virales). Les modifications sont dispersées au hasard et interviennent dans les cellules diploïdes. Il n'y a pas de marqueur. En cas de doute, il convient de s'assurer des thérapeutiques administrées et de tenir compte du fait que les radiations ont des effets persistants durant des mois.

Ces réserves étant faites, on peut dire que hyperploïdie et marqueur associés constituent un critère absolu de malignité lorsqu'ils sont retrouvés dans 3 mitoses.

Nous avons rappelé ici les critères chromosomiques désormais classiques de la malignité cellulaire.

Cependant, notre expérience personnelle nous a permis de rencontrer un nombre appréciable de liquides d'épanchements qui, bien que riches en matériel nucléaire, ne contenaient pas de mitoses (60% des épanchements bénins mais aussi 27% des liquides néoplasiques).

En l'absence de mitoses, l'examen doit-il être considéré comme ininterprétable ?

Il nous est apparu que l'aspect des noyaux interphasique rencontrés en association avec des mitoses normales, (liquides bénins), et celui des noyaux accompagnant des mitoses anormales (liquides malins), est très différent. L'observation des noyaux nus interphasiques en l'absence de mitoses mérite en conséquence une attention particulière. On peut donc s'attacher à décrire des critères nucléaires de malignité.



## CHAPITRE IV

=====

### LES CRITERES NUCLEAIRES. LEUR VALEUR

Le noyau interphasique est représentatif de son contenu en ADN. Une charge chromosomique supérieure à la normale se traduit par une augmentation du volume nucléaire.

Certains auteurs ont proposé l'analyse spectrophotométrique des noyaux comme moyen diagnostique des anomalies numériques (ATKIN N.B. (2)). Ils ne peuvent bien entendu par ce moyen distinguer les triploïdes ou tétraploïdes vraies des hyperploïdies anarchiques.

Les techniques cytologiques courantes permettent l'analyse des noyaux des cellules.

Cependant, les techniques cytogénétiques présentent un intérêt supplémentaire : le choc hypotonique fait disparaître les globules rouges qui constituent parfois une gêne pour l'observateur en cytologie.

De même, les cytoplasmes de cellules sont éliminés et seuls persistent les noyaux nus. Le choc hypotonique réalise certes un artefact, mais un artefact contrôlé (température constante, forces ioniques connues, pH mesuré, temps limité) et reproductible.

La vision des noyaux est extrêmement plus précise et leur morphologie, leur chromatophilie sont particulièrement rehaussés. ATKIN avait signalé l'intérêt des techniques cytogénétiques dans l'examen des noyaux dans son travail sur les tumeurs solides.

L'observation soigneuse et comparative a posteriori des lames provenant des liquides bénins et des liquides malins nous a permis de nous rendre à l'évidence.



Les critères nucléaires de malignité sont aisément repérables par les techniques de cytogénétique :

- . La grande taille est de règle dans les épanchements contenant des mitoses très hyperploïdes.

- . Souvent, une dysmorphie évidente du noyau est associée à sa taille gigantesque : noyau à bord irrégulier pouvant prendre toutes les formes, émettant des prolongements à type de micronucléi.

- . Dans le cadre des mitoses hyperdiploïdes ou hypodiploïdes ou pseudodiploïdes, les noyaux n'attirent pas l'attention par leur taille, mais ici l'aspect de la chromatine peut être très évocateur : chromatophilie particulière, nucléoles parfaitement visibles.

- . Enfin, les agencements des noyaux supposés malins sont très remarquables. Si les différents temps de la technique cytogénétique arrivent à séparer les cellules mésothéliales qui perdent avec leur cytoplasme leur cohésion et leur organisation en placard. Certaines cellules néoplasiques résistent particulièrement. Le cytoplasme est en partie conservé, les membranes restent accolées, d'où des aspects très caractéristiques en placards, et même en pseudo rosaces, avec parfois mitoses sur la frange externe.

Si l'absence de mitose peut être mentionnée une deuxième éventualité doit être évoquée. Bien que rare, nous l'avons rencontrée.

Il s'agit de liquides très pauvres en éléments figurés, que nous avons qualifié "d'acellulaires".

Dans le cadre des épanchements pleuraux, ces cas sont exceptionnels. Par contre, nous les avons rencontrés dans les liquides d'ascites, et plus fréquemment dans le cadre des cirrhoses, mais ces liquides très pauvres peuvent également accompagner un envahissement néoplasique des séreuses (1 cas sur 100 pleurésies malignes dans notre statistique).

La plus faible fréquence de liquides pleuraux acellulaires peut s'expliquer en partie par le fait que les ponctions pleurales sont en général réalisées au point déclive.

On se gardera bien de conclure en pareil cas, aucune donnée ne pouvant supporter un diagnostic de bénignité ou de malignité.



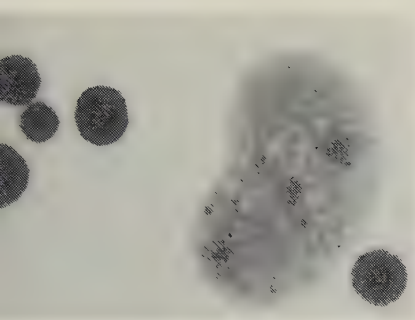


## LEGENDES DES PHOTOS

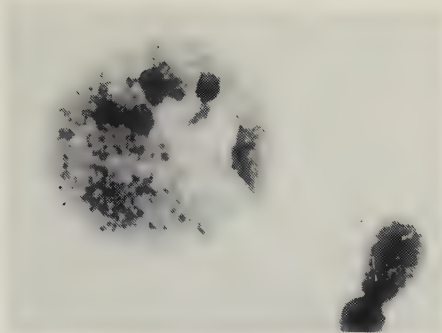
=====

- N° 1      Mme LAU... cancer de l'ovaire.  
Noyau interphasique avec gros nucléole bleu turquoise -  
petits noyaux de lymphocytes.
- N° 2      M. PAT ... mésothéliome  
Noyau interphasique chromatine lâche nucléoles sombres , en  
flaques irrégulières.
- N° 3      M. PAS... mésothéliome  
Pseudo-rosaces : groupement de cellules non dissociées par  
les techniques habituelles, membranes cytoplasmiques adhérentes.
- N° 4      Mme LAU... cancer de l'ovaire  
Mitose hypoploïde à 37 chromosomes proche d'un noyau de  
grande taille à chromatine lâche et nombreux nucléoles.
- N° 5      M. JUG... mésothéliome  
Mitose hyperploïde et marqueurs.
- N° 6      Mme MAY... **Cancer** de l'ovaire  
**Mitose** hyperploïde, bandes R. Très nombreux chromosomes  
remaniés.  
Modifications de structure mises en évidence par la dénaturation.

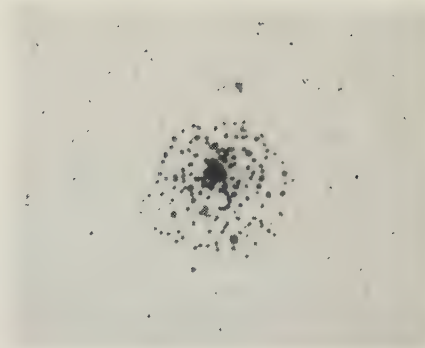
-----



1



2



3

PHOTOS N°s 1 - 2 - 3 : Noyaux interphasiques et pseudo-rosaces.

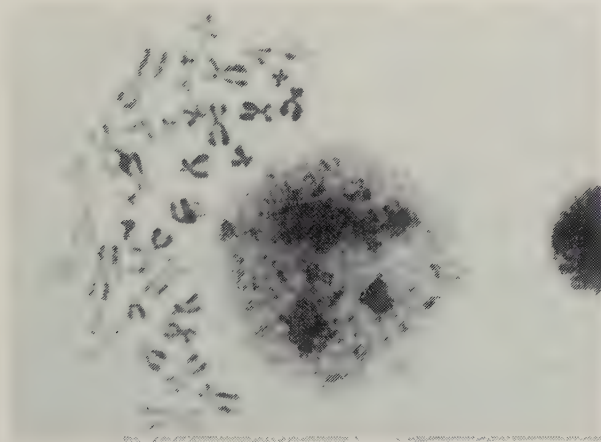


Photo. n° 4 : Mitoses

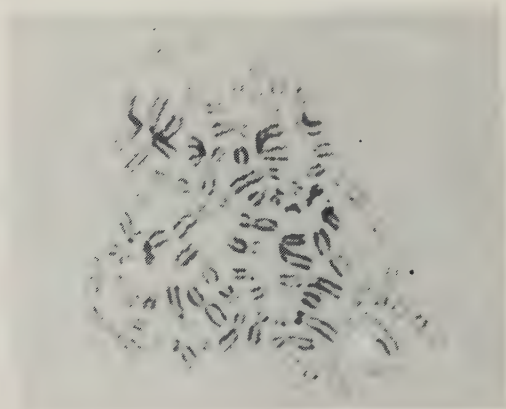


Photo. n° 5 : hyperploïde

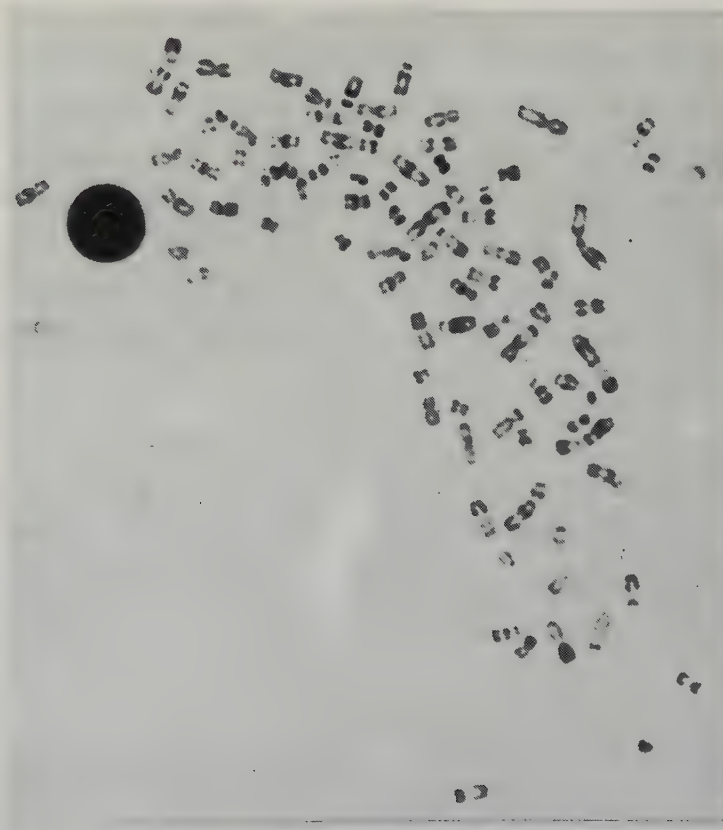


Photo. n° 6 : Dénaturation  
bandes R



## CHAPITRE V

=====

### METHODOLOGIE.

#### I - LES MALADES

La population des malades a été recrutée entre 1971 et février 1977, essentiellement dans le service de Pneumo-Phtisiologie du CHU de Saint-Etienne (Docteur BERARD). Pour une minorité de malades venue des hôpitaux périphériques voisins, les examens ont toujours été réalisés dans le service dans les mêmes conditions rigoureuses.

Nous n'avons retenu dans cette étude que les malades ayant eu le même jour et sur le même échantillon de ponction un examen cytologique et cytogénétique. Tous les patients hospitalisés ne remplissaient pas les conditions rigoureuses et nous avons dû éliminer un grand nombre de dossier d'où une fréquence statistique apparente de 40% en ce qui concerne les épanchements néoplasiques.

Cependant, ce pourcentage n'est pas très éloigné du pourcentage d'épanchements néoplasiques recueillis dans le service du Pr. GALY : 330 pleurésies malignes sur 740 soit 44%.

D'autre part, ont été sélectionnés les seuls cas qui ont bénéficié d'un diagnostic confirmé tant par la clinique, l'évolution que par les examens paracliniques complémentaires. Nous avons donc pu réaliser une comparaison rigoureuse entre les données des examens cytogénétique et cytologique, et le diagnostic clinique.

Sur 249 dossiers dépouillés :

- 202 dossiers ont pu être exploités.
- 27 dossiers ont été éliminés en raison de l'imprécision du



diagnostic clinique ou de l'insuffisance des examens complémentaires.

- 20 dossiers font l'objet d'un autre classement :

- . 6 pleurésies malignes probables.
- . 4 pleurésies bénignes au cours d'une néoplasie connue (poumon).
- . 10 pleurésies survenant au cours de l'évolution d'une néoplasie de voisinage et pour lesquelles nous n'avons pu trancher en faveur de la malignité ou de la bénignité.

Dans tous les cas, nous avons établi une comparaison cytologie, cytogénétique.

## 2 - LES PRELEVEMENTS

Les deux échantillons du même prélèvement sont examinés l'un par le laboratoire de cytogénétique, l'autre par le laboratoire de cytologie, sans orientation diagnostic, sans connaissance des investigations menées parallèlement.

Les techniques cytogénétiques sont soumises à certains impératifs : **une bonne** coordination est nécessaire entre le service de clinique et le laboratoire celui-ci ayant été au préalable prévenu. L'échantillon doit parvenir dans l'heure qui suit la ponction. Nombre d'échecs sont dus au retard apporté par le transport. Le prélèvement doit être effectué le matin afin que les préparations cellulaires soient traitées au cours de la journée.

Quatre heures sont nécessaires pour obtenir des lames prêtes à l'examen microscopique. L'examen direct sans culture, bien que réduit au point de vue matériel reste sans conteste le plus valable, la sélection in vitro s'effectuant très rapidement pour les cellules néoplasiques.

Le liquide est recueilli dans des pots de plastique coniques de 50 ml. Deux pots sont généralement nécessaires. On ajoute une quantité d'héparine adaptée au volume du liquide : 100 U.I. pour 10 ml, de façon à éviter la



formation de tout caillot.

Les liquides hémorragiques sont recueillis de la même façon que les liquides clairs. Les liquides chyleux de même que les liquides purulents présentent quelques problèmes et les préparations sont dans ces cas de moins bonne qualité.

### 3 - TECHNIQUE CYTOGENETIQUE

Parvenu au laboratoire, le liquide est centrifugé dans le tube conique qui a servi au prélèvement pendant 15 minutes à vitesse lente (800 tours/mn) puis le surnageant est rejeté.

Le culot est remis en suspension dans 15 ml de T.C. 199 porté préalablement à 37°. On ajoute alors de la Colchicine (1 ml à 0,04 mgr/ml) (action bloquante du fuseau). On laisse agir 90 minutes à 37°.

Les tubes colchicinés sont alors centrifugés (15' à 800 tours). On enlève le surnageant et on le remplace par un liquide hypotonique : K Cl à 0,075 M, qui outre l'hémolyse des globules rouges provoque un gonflement des noyaux et une dispersion convenable des chromosomes. Durée : 12 minutes à 37°. Lorsque le liquide est très hémorragique, on fait un premier choc hypotonique court, dans le but d'hémolyser la majeure partie des hématies, suivi d'un deuxième choc hypotonique dans les conditions habituelles.

Les tubes sont alors centrifugés pendant 10' toujours à 800 tours. Le surnageant est rejeté et remplacé par un premier fixateur : Carnoy : alcool méthylique - acide acétique (3 volumes - 1 volume). La fixation se fait pendant 45' à +4°. Une nouvelle centrifugation avec élimination du fixateur est nécessaire, et elle est suivie d'une seconde fixation de 15' toujours à +4°.

Dernière centrifugation enfin et élimination du fixateur puis reprise du culot dans quelques gouttes de Carnoy frais. La quantité de Carnoy est ici fonction de la richesse cellulaire. Un culot très petit sera repris dans 2 à 3 gouttes de fixateur, un culot riche nécessitera 1 et parfois 2 ml de fixateur.



L'étalement est particulier. Les lames utilisées doivent être dégraissées préalablement par trempage, soigneusement rincées puis placées 2 heures au moins dans un becher d'eau distillée environné de glace fondante.

La lame étant égouttée, on laisse tomber une goutte de la suspension cellulaire: "l'étalement" se fait spontanément par tension osmotique. Les lames sont séchées à l'air chaud.

La coloration se fait au giemsa à pH 6,7 pendant 10 minutes.

Certaines lames non colorées sont réservées pour la technique des bandes.

#### 4 - OBSERVATION AU MICROSCOPE

L'examen des lames se fait au microscope à objectif 10 pour avoir un aperçu général de l'étalement :

- . richesse du liquide
- . vision des noyaux
- . repérage des mitoses.

On passe alors au fort grossissement (x100). Des photographies peuvent être prises dans certains cas difficiles où le diagnostic est hésitant. Elles sont souvent peu nécessaires lorsque les critères absolus aisément repérables sont présents.

Le résultat peut, en cas de nécessité, être donné le soir même.

Dans le prochain chapitre, nous verrons dans l'ordre suivant :

- 1°) les pleurésies bénignes qui constituent notre population témoin,  
puis
- 2°) les pleurésies malignes.



## CHAPITRE VI

=====

### ETUDE DES PLEURESIES BENIGNES.

Nous avons répertoriés 102 cas, répartis en 76 hommes et 26 femmes.

- La première place revient à la tuberculose : 48 cas.  
Parmi ces cas, nous relevons une polysérite tuberculeuse (que nous reprendrons plus tard dans un paragraphe consacré aux polysérites) et plusieurs associations morbides :
  - . avec un réticulosarcome
  - . avec une leucémie lymphoïde chronique
  - . avec un cancer gastrique opéré 1 an auparavant et qui plus tard métastasera au parenchyme pulmonaire.
- Viennent ensuite 17 cas de pleurésies d'origine infectieuse : bactériennes, virales supposées telles ou sérologiquement prouvées.
- 14 cas d'origine cardio-vasculaire : insuffisance cardiaque ou d'origine embolique.
- 11 cas de pleurésies que la prédominance des éosinophiles nous a permis de regrouper :
  - . 3 pleurésies au cours de connectivites.
  - . 1 pleurésie virale à sérologie positive
  - . 2 pleurésies traumatiques
  - . 5 pleurésies dont nous n'avons pu préciser avec certitude l'étiologie mais pour lesquelles les caractères cliniques comme l'évolution nous ont permis d'affirmer la bénignité.
- 12 cas de pleurésies diverses parmi lesquelles nous avons trouvé :
  - . un syndrome de Demons-Meiggs,



- . une pleurésie chyleuse consécutive à une irradiation pour tumeur médiastinale,
- . un abcès périnéphrétique,
- . une pancréatite chronique,
- . une pleurésie post-opératoire après intervention sur le rein gauche,
- . une cirrhose décompensée,
- . une connectivite,
- . une tumeur thymique,
- . un Paget évoluant depuis 12 ans,
- . origine indéterminée : 3.

## 1 - ETUDE CYTOGENETIQUE

### a) Présence de mitoses : 44 cas

Dans 45 cas sur 102 ( 44,1%) nous avons trouvé des mitoses.

Dans 4 cas, elles étaient altérées et les éléments n'étaient pas identifiables.

Dans 40 cas, nous disposions de critères chromosomiques soit 40%.

Les 41 cas se distribuent selon le schéma suivant :

- 26 cas : mitoses diploïdes normales,
- 7 cas : mitoses diploïdes + hypoploïdes
- 3 cas : mitoses hypoploïdes isolées
- 3 cas : mitoses diploïdes + hyperploïdes
- 1 cas : mitose hypoploïde + hyperploïde.

Les 5 cas comportant des mitoses hyperploïdes ont été examinés avec une attention particulière. Dans tous ces 5 cas, l'hyperploïdie était isolée car nous n'avons pas trouvé d'anomalies de structure ; les mitoses étaient proches de la tétraploïdie régulière. Des caryotypes ont été établis.



L'examen des noyaux interphasiques nous a guidé également dans notre réponse, et dans 3 cas nous avons pu conclure à la bénignité. Dans un cas, où on a relevé l'association d'hyperploïdie et d'hypoploïdie, les noyaux étaient souvent anormaux par leur taille et leur chromatine. Nous avons donc été conduit à faire une réserve : Réponse suspecte.

b) Absence de mitose : 57 cas

Les critères chromosomiques étant absents, nous avons jugé sur l'aspect des noyaux, leur arrangement, comme nous l'avons souligné précédemment. Dans 8 cas, nous les avons trouvés suspects et nous avons donc rendu une réponse en ce sens.

c) Nous avons eu 1 seul liquide acellulaire ce qui est intéressant de noter alors que dans les ascites bénignes nous avons eu 8,7% de liquides acellulaires.

d) Détail des résultats par étiologie

. Les pleurésies tuberculeuses : 48

Elles se répartissent en 9 femmes et 39 hommes.

Riches en matériel, les mitoses y sont fréquentes et le plus souvent diploïdes. On trouve parfois quelques mitoses tétraploïdes. L'accompagnement nucléaire est bien classique monomorphe composé presque exclusivement de noyaux de type lymphocytaire.

Dans 21 cas nous avons des données chromosomiques et dans 27 cas nous n'en n'avons pas.



Détail des mitoses

| Nombre de cas | Mitoses           |
|---------------|-------------------|
| 15            | 46                |
| 3             | 46 + hypoploïdie  |
| 2             | 46 + hyperploïdie |
| 1             | altérées          |
| TOTAL 21      |                   |

Nous avons donné une réponse de bénignité dans 46 cas sur 48; la taille des noyaux dans les deux autres cas nous a fait émettre une réserve.

. Pleurésies infectieuses : 17

Dans la majorité des cas, l'épanchement est composé de noyaux de polynucléaires, à côté desquels on trouve quelques noyaux de lymphocytes ou de cellules mésothéliales. Il tend à être monomorphe dans les pleurésies purulentes, celles-ci représentant un très mauvais matériel pour les techniques cytogénétiques : les mitoses ne sont jamais rencontrées. La masse des polynucléaires rend l'examen ininterprétable.

Dans 5 cas, nous avons des données chromosomiques et dans 12 cas nous n'en avons pas.

Détail des mitoses

| Nombre de cas | Mitoses          |
|---------------|------------------|
| 4             | 46               |
| 1             | 46 + hypoploïdie |
| TOTAL 5       |                  |



Dans 9 cas : nous avons rendu un résultat de bénignité sur les noyaux.

Dans un cas : les noyaux étaient dysmorphiques quoique associés à des mitoses à 46. Il s'agissait d'une pleurésie virale.

Les 2 derniers cas étaient ininterprétables (altération des éléments).

Il s'agit de 2 pleurésies purulentes.

En conclusion, un cas est répondu suspect, 14 cas bénins et deux ininterprétables.

. Pleurésies d'origine cardio-vasculaire : 14

L'étalement est constitué de noyaux de lymphocytes et de noyaux de cellules mésothéliales.

Dans 8 cas sur 14, nous n'avons pas de données chromosomiques.

Détail des mitoses

| Nombre de cas | Mitoses                    |
|---------------|----------------------------|
| 2             | 46                         |
| 1             | hyperploïdie + hypoploïdie |
| 1             | hypoploïdie                |
| 2             | altérées                   |
| TOTAL 6       |                            |

Dans 1 cas, l'association des noyaux inhabituels et de l'aneuploïdie a été considérée comme suspecte, et dans deux cas où nous n'avons pas observé de mitose, nous avons trouvé de rares gros suspects.

En conclusion, nous avons répondu 11 fois bénins et 3 fois nous avons émis une réserve.



. Pleurésies à éosinophiles : 11

Dans 3 cas sur 11 nous n'avons pas de données chromosomiques.

Détail des mitoses

| Nombre de cas | Mitoses           |
|---------------|-------------------|
| 3             | 46                |
| 2             | 46 + hypoploïdie  |
| 1             | 46 + hyperploïdie |
| 1             | hyperploïdie      |
| 1             | altérée.          |

L'hyperploïdie bien que sans anomalie de structure, a été jugée suspecte, et dans un cas nous avons trouvé quelques noyaux suspects.

Au total, nous avons rendu une réponse positive dans 2 cas sur 11.

. Pleurésies d'origine diverse : 12

Dans 5 cas sur 12 nous n'avons pas de données chromosomiques.

Détail des mitoses

| Nombre de cas | Mitoses          |
|---------------|------------------|
| 2             | 46               |
| 1             | 46 + hypoploïdie |
| 2             | hypoploïdie      |

Au total nous avons rendu une réponse suspecte sur les noyaux dans deux cas.



Les résultats généraux sont rapportés dans les trois tableaux suivants :

T A B L E A U    I

| Conclusions en cytogénétique                         | Nombre de cas | Pourcentage |
|------------------------------------------------------|---------------|-------------|
| Absence d'anomalies en faveur de la bénignité        | 91            | 89,2%       |
| Présence d'éléments suspects nécessitant un contrôle | 10            | 8,8%        |
| Liquides ininterprétables                            | 2             | 2 %         |

Aucun faux positif n'est à déplorer.



2 - ETUDE CYTOLOGIQUE

T A B L E A U . . . II

| Conclusions en cytologie | Classe I et II | Classe III |
|--------------------------|----------------|------------|
| Pleurésies d'origine     |                |            |
| - tuberculeuse           | 42 cas         | 6          |
| - infectieuse            | 13 cas         | 4          |
| - cardio-vasculaire      | 8 cas          | 6          |
| - à éosinophiles         | 11 cas         | 0          |
| - diverse                | 8 cas          | 4          |
|                          | 82 cas         | 20         |

Aucun faux positif n'est à déplorer.

3 - COMPARAISON ENTRE CYTOLOGIE ET CYTOGENETIQUE

T A B L E A U . . . III

| Cytologie-Cytogénétique | Classe I et II | Classe III | Total cytogénétique |
|-------------------------|----------------|------------|---------------------|
| Absence d'anomalie      | 74             | 16         | 90                  |
| Suspects                | 6              | 4          | 10                  |
| Ininterprétables        | 2              |            | 2                   |
| TOTAL cytologie         | 82             | 20         | 102                 |



COMMENTAIRE

. 75 cas sont concordants dans le sens de la bénignité.

Il s'agit de 41 épanchements tuberculeux

6  panchements d'origine cardio-vasculaire

10  panchements d'origine infectieuse

9 pleurésies   eosinophiles

8 d'origine diverse.

. 25 fois les résultats sont discordants :

16 fois résultats cytogénétiques en faveur de la bénignité  
et frottis classe III.

Il s'agissait de :

5  panchements tuberculeux

5  panchements d'origine cardio-vasculaire

4  panchements infectieux

2  panchements d'origine diverse.

. 6 fois présence d'éléments suspects en cytogénétique et  
classe I ou II en cytologie

1  panchement d'origine infectieuse

2  panchements   eosinophile.

Les deux fois où les étalements étaient ininterprétables en  
cytogénétique, ils étaient classe I. Il s'agissait de pleurésies purulentes.

Au total, nous avons pu affirmer la bénignité 90 fois et la  
cytologie 80 fois. Les deux résultats pris ensemble ont permis de l'affirmer  
98 fois. La complémentarité des deux méthodes est ici bien illustrée.



## CHAPITRE VII

=====

### ETUDE DES PLEURÉSIES MALIGNES

Parmi les malades ayant eu un examen cytogénétique de leur liquide pleural, 100 ont fait l'objet d'un diagnostic confirmé de malignité.

Ils se répartissent en 48 hommes et 52 femmes.

Les étiologies sont les suivantes :

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| - mésothéliomes .....     | 26    |
| - poumons .....           | 18    |
| - appareil génital .....  | 27    |
| - appareil digestif ..... | 6     |
| - rein .....              | 5     |
| - divers .....            | 13    |
| - hémopathies .....       | 5     |
|                           | <hr/> |
|                           | 100   |

#### Chez l'homme : 48 cas

|                              |    |
|------------------------------|----|
| . mésothéliomes .....        | 20 |
| . cancers du poumon .....    | 15 |
| . cancers du larynx .....    | 1  |
| . origine rénale .....       | 3  |
| . origine digestive .....    | 2  |
| - estomac ....               | 1  |
| - pancréas ...               | 1  |
| . origine indéterminée ..... | 3  |
| . hémopathies malignes ..... | 4  |
| - maladie de Hodgkin ...     | 1  |
| - myelome .....              | 1  |
| - Lymphosarcome .....        | 1  |
| - réticulosarcome .....      | 1  |



Chez la femme : 52 cas

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| . cancers d'origine génitale .....  | 27 |
| - seins .....                       | 15 |
| - ovaires .....                     | 10 |
| - endomètre .....                   | 1  |
| - col utérin .....                  | 1  |
| . mésothéliome .....                | 6  |
| . rein .....                        | 2  |
| . cancers d'origine digestive ..... | 4  |
| - hépatome .....                    | 1  |
| - cancer vésiculaire .....          | 1  |
| - estomac .....                     | 1  |
| - colon .....                       | 1  |
| . cancer pulmonaire .....           | 3  |
| . hémopathie .....                  | 1  |
| . origine diverse .....             | 4  |
| - mélanome .....                    | 2  |
| - ostéosarcome .....                | 1  |
| - rhabdomyosarcome ..               | 1  |
| . origine indéterminée .....        | 5  |

Dans chaque groupe nous avons pu dans la majorité des cas examiner des mitoses et donc obtenir des données chromosomiques. Cependant dans 15 cas sur 100 nous n'avons pas trouvé de mitoses. Dans 14 cas, l'examen a tenu compte de la morphologie des noyaux interphasiques et nous avons pu en tirer des conclusions propres à définir un diagnostic. Dans 1 cas les éléments figurés étaient si rares que nous avons adopté la qualification de acellulaire, ce cas là étant ininterprétable.

La présence des mitoses est beaucoup plus fréquente que dans les pleurésies bénignes puisque nous l'avons notée 85 fois. Il est certains groupes comme les mésothéliomes, les cancers de l'ovaire, les hémopathies, où les mitoses sont abondantes et se prêtent bien à l'analyse cytogénétique. La moindre fréquence dans les métastases de cancer du poumon impose de



se référer davantage à l'analyse des critères nucléaires, ceux-ci étant toujours présents en cas de critères chromosomiques.

Les observations sont résumées dans le tableau qui suit

| Etiologie                        | Présence de mitoses | Absence de mitoses :<br>noyaux seuls | TOTAL |
|----------------------------------|---------------------|--------------------------------------|-------|
| Mésothéliome                     | 22                  | 4                                    | 26    |
| Poumons                          | 13                  | 5                                    | 18    |
| Seins                            | 15 15               |                                      | 15    |
| Ovaires                          | 9                   | 1                                    | 10    |
| Endomètre                        | 1                   |                                      | 1     |
| Col utérin                       | 1                   |                                      | 1     |
| Estomac                          | 2                   |                                      | 2     |
| Vésicule                         | 1                   |                                      | 1     |
| Hépatome                         | 1                   |                                      | 1     |
| Pancréas                         | 1                   |                                      | 1     |
| Colon                            | 1                   |                                      | 1     |
| Rein                             | 4                   | 1                                    | 5     |
| Mélanome                         | 2                   |                                      | 2     |
| Ostéosarcome                     | 1                   |                                      | 1     |
| Rhabdomyosarcome                 | 1                   |                                      | 1     |
| Origine indéterminée             | 5                   | 3                                    | 8     |
| Maladie de Hodgkin               | 1                   |                                      | 1     |
| Myélome                          | 1                   |                                      | 1     |
| Lymphosarcome                    | 1                   |                                      | 1     |
| Leucémie myéloïde en acutisation | 1                   |                                      | 1     |
| Réticulo sarcome                 | 1                   |                                      | 1     |

T O T A L ..... 85 14 99

Liquide acellulaire : I - Il s'agit d'une métastase d'un  
cancer du larynx



Les résultats détaillés de nos observations ainsi que les comparaisons avec l'examen cytologique seront exposés appareil par appareil.

a) Mésothéliome : 26 observations

- Présence de mitoses ..... 21 cas
- Absence de mitoses ..... 4 cas
- Mitoses ininterprétables ..... 1 cas

a 1-1 - Etude des mitoses : 21 cas

Anomalies de nombre : Elles sont constantes

Il existe une grande dispersion du nombre de chromosomes pour un même malade, l'associant hypoploïde (33 chromosomes) et hyperploïdie majeure supérieure à 200 est rencontré dans 7 cas. Nous avons pu mettre en évidence un nombre modal préférentiel dans 8 cas : 5 cas où le nombre était voisin de 60, et 3 cas où le nombre était voisin de 35.

Nous avons trouvé 12 cas d'hyperploïdie pure, les nombres chromosomiques s'échelonnent entre 55 et 200 chromosomes.

Dans un cas l'hyperploïdie était associée à des mitoses d'apparence diploïde.

Dans un seul cas, les mitoses étaient hypoploïdes.

Pour le seul cas d'hypoploïde isolée, l'environnement nucléaire permit la confirmation de la malignité.

Anomalies de structure :

Pour toutes les mitoses hyperploïdes isolées ou associées à des mitoses hypoploïdes, ou diploïdes, le diagnostic de malignité fut aisé, tant les anomalies de structure associées étaient nombreuses .

Les remaniements chromosomiques sont importants, aboutissant à la formation de marqueurs : dans 5 cas, un seul marqueur et dans 4 cas, 2 marqueurs. Pour connaître parfaitement leur structure, il aurait fallu que nous



utilisons les techniques de bande. Cependant, pour certains d'entre eux, nous avons pu les identifier au type Dq+, Bq+ et pseudo 2.

Dans 1 cas, un premier examen cytogénétique avait trouvé un anneau dupliqué, ce qui a fait penser à une irradiation antérieure; l'interrogatoire n'a révélé aucun antécédent chimiothérapique ou radiothérapique, et sur un deuxième prélèvement, nous avons retrouvé ce même anneau. Il s'agissait d'un marqueur.

En conclusion, on trouve une grande exhubérance des divisions cellulaires dans les mésothéliomes ; la malignité est identifiable, nombre modal et marqueur permettant de définir des clones propres à chaque malade. Le diagnostic étiologique reste impossible.

#### a 1-2 - Etude limitée aux noyaux interphasiques seuls

Nous n'avons pas eu de mitoses dans 4 cas et dans un cas leur altération ne permettait aucune interprétation.

Dans 3 cas le diagnostic de malignité reposait sur la morphologie des noyaux : monstrueux tant par la taille que par la présence de contours tourmentés, avec micronucléi reflétant les troubles de réplication de l'ADN. La chromatine lâche, les nucléoles nombreux et irréguliers sont aussi évocateurs d'un processus malin - photo. n° 2.

Nous avons noté également des arrangements cellulaires en pseudorosaces très particuliers. Le choc hypotonique n'a pu parvenir à dissocier ces groupements, la cohésion membranaire a résisté - photo. n° 3.

Dans un cas, les dysmorphies nucléaires étaient plus discrètes et nous n'avons pas trouvé de groupements organisés. Nous avons répondu suspect de malignité en l'absence de critères absolus.

Enfin, le dernier cas ne comportait pas d'anomalies nucléaires évidentes et les mitoses trop altérées ne permettaient pas d'être retenues.



Nous avons répondu absence d'anomalie. Il s'agit donc d'un faux négatif.

Le tableau suivant résume les résultats des examens cytologiques et cytogénétiques réalisés sur un même prélèvement.

a 1-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques :

| Conclusions                       | Cytogénétique |        | Cytologie |
|-----------------------------------|---------------|--------|-----------|
|                                   | Chromosomes   | Noyaux |           |
| Présence de critères de malignité | 21            | 3      | 19        |
| Suspects                          |               | 1      | 5         |
| Absence de critères de malignité  | 1             |        | 1         |
| Inclassable                       |               |        | 1         |
| TOTAL .....                       | 26            |        | 26        |

a 1-4 - Résultats comparatifs :

| Cytologie \ Cytogénétique         | Malin<br>Classe IV-V | Classe<br>III | Classe<br>I | Inclassable | Total |
|-----------------------------------|----------------------|---------------|-------------|-------------|-------|
| Présence de critères de malignité | 18                   | 5             | 1           |             | 24    |
| Suspects                          |                      |               |             | 1           | 1     |
| Absence de critères de malignité  | 1                    |               |             |             | 1     |
| TOTAL .....                       | 19                   | 5             | 1           | 1           | 26    |



Conclusion : la complémentarité des 2 méthodes ressort bien.

En effet, la cytologie a été classe IV dans 1 cas faux négatif en cytogénétique et par contre celle-ci a répondu "présence d'anomalies" alors que la cytologie était classe I. Au total nous avons fait un diagnostic de malignité 25 fois/26.

b) Métastases d'origine pulmonaire : 18 cas

- Présence de mitoses ..... 13 fois
- Absence de mitoses ..... 5 fois

b 1-1 - Etude des mitoses : 13 cas

Anomalie de nombre :

Dans la majorité des cas : 9 cas, nous avons trouvé des mitoses hyperploïdes.

Soit isolées : 2 cas

Soit associées à des mitoses hypoploïdes : 6 cas

Soit associées à des mitoses très altérées : 1 cas.

Dans 2 cas, nous avons trouvé des mitoses hypoploïdes en association avec des mitoses à 46 chromosomes d'apparence diploïde.

Une fois un nombre modal à 37 chromosomes a pu être mis en évidence. En général l'hypoploïdie était comprise entre 30 et 45 chromosomes.

Dans deux cas des mitoses à 46 chromosomes étaient seules et fréquentes. Des mitoses tétraploïdes régulières ont été également rencontrées associées à des aneuploïdies. Le mélange de cellules d'apparence normale avec les cellules malignes peut rendre compte de phénomènes irritatifs associés et représentent très vraisemblablement des cellules mésothéliales ou des lymphocytes en cours de division.

Anomalie de structure :

Six fois dans ces 13 cas nous avons trouvé des anomalies de structure. Un marqueur de type Bp-a été retrouvé dans 5 cas. Dans un autre cas deux marqueurs étaient présents : 1 grand chromosome médian et un grand



chromosome distal, associées à des pertes de chromosomes du groupe B.

b 1-2 - Etude limitée aux noyaux interphasiques : 5 cas.

Dans quatre cas les dysmorphies nucléaires étaient peu évocatrices d'un processus malin mais un doute persistait. L'échantillon fut répondu suspect.

Dans un cas nous n'avons trouvé que des noyaux de type lymphocytaire et nous avons conclu à l'absence d'anomalie.

Nous devons ici signaler que dans 3 cas où nous avons trouvé des mitoses hypoploïdes ou à 46 chromosomes sans anomalies de structure évidente, la présence de noyaux groupés en pseudo-rosaces ou même parfois isolés, présentant des caractères évidents de malignité, nous ont fait affirmer la présence d'anomalies.

b 1-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques :

| Conclusions           | Cytogénétique |                     | Cytologie |
|-----------------------|---------------|---------------------|-----------|
|                       | Chromosomes   | Noyaux              |           |
| Critères de malignité | 9             | 3<br>(avec mitoses) | 12        |
| Suspicion             | 1             | 4                   | 4         |
| Absence d'anomalie    | 1             |                     | 2         |
| TOTAL                 | 18            |                     | 18        |

Un deuxième examen cytologique a permis dans un cas classé négatif d'apporter une réponse positive et de soulever l'hypothèse d'une métastase d'un cancer à petites cellules.



b 1-4 - Résultats comparatifs :

| Cytologie<br>Cytogénétique          | Malin IV | Classe III | Classe I | Total |
|-------------------------------------|----------|------------|----------|-------|
|                                     |          |            |          |       |
| Critères de malignité               | 11       | 1          |          | 12    |
| Suspects                            | 1        | 2          | 2        | 5     |
| Absence de critères<br>de malignité |          | 1          |          | 1     |
| TOTAL .....                         | 12       | 4          | 2        | 18    |

Complémentarité : nous avons fait un diagnostic de malignité 13 fois en couplant les 2 méthodes.

c) Métastases d'origine génitale :

c 1-1 - Seins : 15 cas

- présence de mitoses ..... 15

c 1-1-1 - Etude des mitoses :

Les anomalies de nombre

Les mitoses comptées ont montré une dispersion chromosomique de 42 à 100.

Dans 7 cas, nous avons des hyperploïdies vraies ou majeures et dans 3 cas, l'hyperploïdie était associée à l'hypoploïdie. Le diagnostic fut aisé dans tous ces cas.

Dans 5 autres cas, 1 fois, nous avons obtenu des mitoses en apparence diploïdes, 2 fois des mitoses proches de la diploïdie; 2 fois les mitoses étaient altérées et ne permettaient pas l'analyse. Dans ces 5 cas, nous avons



fait appel à l'analyse nucléaire pour compléter nos observations.

Anomalies de structure :

Elles étaient présentes dans les mitoses hyperploïdes.

Dans 4 cas, nous avons mis en évidence des marqueurs, dont un type Bp, et des anomalies de structure multiples.

Enfin, dans 2 observations, nous avons trouvé également des chromosomes minutes, qui représentent de petits fragments de chromosomes cassés : ces malades avaient subi une irradiation après opération de Halstedt, quelques mois auparavant.

c 1-1-2 Etude limitée aux noyaux interphasiques seuls

Ayant eu chaque fois des mitoses, nous incluons ici les 5 cas où les mitoses étaient diploïdes pseudodiploïdes ou altérées.

Celle-ci nous a été utile dans les 5 cas où les critères chromosomiques étaient pris en défaut. Nous avons trouvé chaque fois des noyaux néoplasiques de grande taille à chromatine claire, richement nucléolés.

Ces noyaux ont aussi été trouvés dans le cas où nous avions des critères chromosomiques et nous avons été frappés de la grande constance d'arrangements de ces noyaux entre eux : en amas circulaires, en rosaces très régulières, si bien que nous avons pu répondre que ces aspects évoquaient une métastase d'un cancer du sein. Notre réponse après comparaison avec le diagnostic clinique s'est toujours révélée positive.

c 1-1-3 Résultats comparatifs cytogénétiques et cytologiques

| Conclusions                      | Cytogénétique |        | Cytologie |
|----------------------------------|---------------|--------|-----------|
|                                  | Chromosomes   | Noyaux |           |
| Critères de malignité            | 10            | 5      | 13        |
| Suspects                         |               |        | 1         |
| Absence de critères de malignité |               |        | 1         |
| TOTAL .....                      | 15            |        | 15        |



Nous avons eu 100% de résultats positifs.

c 1-2 - Ovaire : 10 cas

- Présence de mitoses ..... 9
- Absence de mitoses ..... 1

c 1-2-1 Etude des mitoses :

Anomalie de nombre :

Nous avons trouvé des mitoses hyperploïdes dans 7 cas d'adénocarcinome ovarien. Dans 2 cas hyperploïdie et hypoploïdie étaient associés. Nous avons relevé un mode à 49 chromosomes 2 fois. Dans 1 cas les mitoses étaient très altérées, sans possibilité d'analyse.

Anomalie de structure :

Nous avons trouvé 6 fois un marqueur de type Bp qui a été identifié par certains auteurs comme étant un 5p-. BERGER R. (8).

Ce marqueur a été trouvé 16 fois sur 26 dans les ascites secondaires à un Kc de l'ovaire.

Nos techniques n'ont malheureusement pas toujours donné de résultats en dénaturation. Cependant la photo n° 6 illustre bien les anomalies de structure dans le cas d'un cancer de l'ovaire, le 5 p- est présent.

c-2-2 Etude des noyaux interphasiques

Dans un cas où les mitoses étaient altérées, l'observation du matériel nucléaire permet d'affirmer la malignité.

L'étude des métastases d'adénocarcinome ovarien aussi bien pour les épanchements pleuraux que pour les ascites nous a permis de trouver un critère nucléaire commun : il s'agit de gros noyaux réguliers caractérisés par des nucléoles bien délimités de couleur bleu turquoise. Photo. n° 1.

La répétition de cette observation nous a permis de suspecter les métastases d'adénocarcinome ovarien.



c 1-2-3 Résultats comparatifs entre cytologie et  
cytogénétique

| Conclusions                          | Cytogénétique |        | Cytologie |
|--------------------------------------|---------------|--------|-----------|
|                                      | Chromosomes   | Noyaux |           |
| Présence de critères<br>de malignité | 9             | 1      | 9         |
| Suspects                             |               |        | 1         |
| TOTAL .....                          | 10            |        | 10        |

c 1-3 - Col utérin : 1 cas

La présence de mitoses hyperploïdes avec anomalies de structure a permis d'affirmer la malignité. Nous avons par ailleurs rencontré une grande quantité de chromosomes minutes.

La cytologie est classe IV.

c 1-4 - Corps utérin : 1 cas

L'étalement est riche en mitoses aneuploïdes

- mitoses hypoploïdes,
- mitoses hyperdiploïdes, autour de 50 chromosomes
- mitoses hyperploïdes majeures dépassant le chiffre de 500 chromosomes.

Les noyaux énormes sont groupés en amas organisés avec mitoses sur la frange externe, ce qui nous est toujours apparu comme un critère de malignité.

La cytologie fut répondu classe IV.



Tableau récapitulatif des épanchements pleuraux d'origine génitales :

| Etiologie    | Nombre de cas | Conclusions                      | Cytogénétique | Cytologie    |
|--------------|---------------|----------------------------------|---------------|--------------|
| Sein         | 15            | Malin<br>suspect<br>Faux négatif | 15            | 13<br>1<br>1 |
| Ovaire       | 10            | Malin<br>Suspect                 | 10            | 9<br>1       |
| Col utérin   | 1             | Malin                            | 1             | 1            |
| Corps utérin | 1             | Malin                            | 1             | 1            |

d) Métastases d'origine digestive :

d 1-1 - Métastase d'une néoplasie gastrique : 2 cas

- Présence de mitoses ..... 2

d 1-1-1 Etude des mitoses

Les mitoses sont aneuploïdes avec hyperploïdies majeures ; des anomalies de structure et un marqueur ont été trouvés dans un cas.

Les noyaux rencontrés sur ces lames étaient toujours hautement dysmorphiques.

Les cytologies étaient classe IV, dans les 2 cas.

d 1-2 - Métastase d'un cancer vésiculaire : 1 cas

Les mitoses hyperploïdes sont nombreuses, le diagnostic de malignité ne fait aucun doute.

Le liquide d'ascite était en tout point identique au liquide pleural.



La cytologie fut répondu classe V.

d 1-3 - Métastase d'un hépatome : 1 cas

Les mitoses sont hyperploïdes avec présence d'anomalies de structure. On trouve aussi de nombreuses mitoses à 46. Il n'y a eu de dénaturation.

Le liquide d'ascite est identique au liquide pleural.

La cytologie fut répondu classe III

d 1-4 - Métastase d'un cancer du colon : 1 cas

L'analyse cytogénétique est restée très suspecte à 2 reprises avec présence d'hyperploïdie à 51, sans anomalie de structure.

La cytologie fut répondu classe III.

d 1-5 - Métastase d'un cancer du pancréas : 1 cas

Nous avons trouvé de nombreuses mitoses hyperploïdes avec des noyaux très dysmorphiques.

La cytologie fut répondu classe III.

d 1-6 - Résultats cytogénétiques et cytologiques

| Cytologie<br>Cytogénétique           | Classe IV-V | Classe III | Total |
|--------------------------------------|-------------|------------|-------|
| Présence de critères<br>de malignité | 3           | 2          | 5     |
| Suspects                             |             | 1          | 1     |
| TOTAL .....                          | 3           | 3          | 6     |



e) Métastase de cancers du rein : 5 cas

- Présence de mitoses ..... 1
- Absence de mitose ..... 1

e 1-1 - Etude des mitoses :

Deux fois, nous avons des mitoses hyperploïdes ; dans 1 cas, elles sont associées à des mitoses hypoploïdes. Le diagnostic de malignité est évident.

Une fois, l'hypoploïdie isolée est associée à des noyaux très incisés malins, l'association de ces 2 faits nous a permis de porter le diagnostic de malignité.

Dans 1 cas, les mitoses à 46 sont nombreuses, associées à une mitose à 90 (tétraploïdie).

L'étude des noyaux doit donc compléter l'observation des lames.

e 1-2 - Etude limitée aux noyaux interphasiques

Dans un cas où les mitoses sont totalement absentes, les noyaux organisés et dysmorphiques permettent d'affirmer la malignité.

Dans un cas (mitoses hypoploïdes), les critères nucléaires ont permis d'affirmer la malignité.

e 1-3 - Résultats cytogénétiques et cytologiques

| Conclusions                       | Cytogénétique |                                | Cytologie |
|-----------------------------------|---------------|--------------------------------|-----------|
|                                   | Chromosomes   | Noyaux                         |           |
| Présence de critères de malignité | 2             | 2<br>(dont 1 avec hypoploïdie) | 4         |
| Suspects                          |               | 1                              | 1         |
| TOTAL .....                       | 5             |                                | 5         |



e 1-4 - Résultats comparatifs :

| Cytologie<br>Cytogénétique        | Classe IV-V | Classe III | Total |
|-----------------------------------|-------------|------------|-------|
|                                   |             |            |       |
| Présence de critères de malignité | 3           | 1          | 4     |
| Suspects                          | 1           |            | 1     |
| TOTAL .....                       | 4           | 1          | 5     |

Donc il y a complémentarité des 2 techniques puisque l'association des 2 méthodes permet d'arriver au diagnostic de malignité dans 100% des cas.

f) Métastases de cancer d'origine diverse : 13

f 1-1 - Métastases de mélanomes malins : 2 cas

Nous avons trouvé des mitoses hypoploïdes (proches de la diploïdie) associée à des noyaux dysmorphiques.

Dans un cas où il y avait une ascite associée, le liquide était identique.

La cytologie était une fois classe III, une fois classe IV.

f 1-2 - Métastases d'un ostesarcome ostéogénétique :

Les mitoses étaient très hyperploïdes avec présence de marqueur. La cytologie était classe IV.

f 1-3 - Métastase d'un rhabdomyosarcome :

L'aneuploïdie est importante avec hypoploïdie de 32 à 45 associée à des pertes sélectives, et à une mitose hyperploïde à 91 très anarchique.

La cytologie était classe III.



f 1-4 - Métastase d'un adéno-carcinome du larynx :

Le liquide était trop pauvre pour être interprété.

La cytologie était classe IV.

f 1-5 - Métastases d'un cancer d'origine indéterminée : 8

Dans 6 cas, nous avions des mitoses : dans 5 cas mitoses hyperploïdes avec marqueur associé dans 1 cas, dans 1 cas mitoses hypoploïdes. Mais nous avons noté chaque fois la présence de noyaux malins et dans 3 cas, la présence d'amas organisés en rosaces avec parfois mitoses sur la frange externe.

Dans 2 cas, où les mitoses étaient absentes, l'aspect des noyaux et leurs agencements nous a permis de porter un diagnostic de malignité.

La cytologie est positive chaque fois.

f 1-6 - Résultats cytogénétiques et cytologiques

| Conclusions           | Cytogénétique |                             | Cytologie |
|-----------------------|---------------|-----------------------------|-----------|
|                       | Chromosomes   | Noyaux                      |           |
| Critères de malignité | 7             | 5 (dont 3 avec hypoploïdie) | 11        |
| Suspects              | -             |                             | 2         |
| Sans conclusion       | 1             |                             |           |



f 1-7 - Résultats comparatifs entre cytologie et cytogénétique :

| Cytologie<br>Cytogénétique           | Classe IV-V | Classe III | Total |
|--------------------------------------|-------------|------------|-------|
| Présence de critères de<br>malignité | 10          | 2          | 12    |
| Liquide acellulaire                  |             | 1          | 1     |
| TOTAL .....                          | 10          | 3          | 13    |

g) Localisation pleurale d'une hémopathie : 5

- Présence de mitoses : 5 cas

Il s'agit d'un myélome, d'une leucémie myéloïde en acutisation d'un lymphosarcome, d'une maladie de Hodgkin, d'un hématosarcome type réticulosarcome.

g 1-1 - Etude des mitoses

Dans 4 cas, nous avons une aneuploïdie :

- . hyperploïdie et anomalies de structure et chromosome Phi pour la leucémie myéloïde en acutisation.
- . hyperploïdie et hypoploïdie pour le plasmocytome, de 43 à 83 chromosomes avec anomalies de structure et pertes sélectives des chromosomes E et G.
- . hyperploïdie supérieure à 88 pour l'hématosarcome type réticulo-sarcome.
- . hypoploïdie et hyperploïdie de 40 à 48 avec pertes sélectives des groupes E et G pour le lymphosarcome.
- . les mitoses sont nombreuses dans la maladie de Hodgkin mais l'analyse en est impossible. L'étalement est monomorphe. Nous n'avons pas de critère de malignité.



En cytologie, nous avons 4 classes V pour le lymphosarcome, le plasmocytome la leucémie myéloïde en acutisation et l'hématosarcome type réticulosarcome.

La maladie de Hodgkin est classe I.

Donc pas de bénéfice en couplant les deux méthodes puisque nous avons un faux négatif en cytologie et cytogénétique pour la maladie de Hodgkin.

g 1-2 - Résultats cytogénétiques et cytologiques

| Conclusions                       | Cytogénétique |        | Cytologie |
|-----------------------------------|---------------|--------|-----------|
|                                   | Chromosomes   | Noyaux |           |
| Présence de critères de malignité | 4             |        | 4         |
| Absence de critères de malignité  | 1             |        | 1         |

g 1-3 - Résultats comparatifs

| Cytologie<br>Cytogénétique        | Classe IV-V | Classe I | Total |
|-----------------------------------|-------------|----------|-------|
|                                   |             |          |       |
| Présence de critères de malignité | 4           |          | 4     |
| Absence de critères de malignité  |             | 1        | 1     |
| TOTAL .....                       | 4           | 1        | 5     |



#### h) Etude des cas où le diagnostic clinique est imprécis : 6

Bien qu'il nous manque une preuve absolue de malignité, nous rapportons ces cas pour lesquels la clinique en l'absence d'investigations biocliniques, a fait évoqué la malignité : épanchement intrarrissable, péricardite, oedème d'un membre supérieur, atélectasie, paralysie récurrentielle, baisse rapide de l'état général.

Critères chromosomiques : 5 cas

. 4 fois nous avons eu des hyperploïdies, avec 2 fois des anomalies de structure, des dicentriques et une fois un marqueur.

. et dans un cas l'hypoploïdie était associée à des anomalies de structure et à un marqueur de type Bp..

### Critères nucléaires :

Dans 1 cas nous n'avions pas de mitose, les lames étaient envahies par des noyaux malins.

La cytologie était classe IV ..... 4 fois  
 III ..... 1 fois  
 II ..... 1 fois



i) Tableau récapitulatif de tous les résultats

| Etiologie         | Nombre de cas | Nombre de cas<br>malins en<br>cytogénétique | Nombre de cas<br>Classe IV en<br>cytologie | Nombre de cas<br>Malins en cou-<br>plant les deux<br>méthodes |
|-------------------|---------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Mésothéliome      | 26            | 24                                          | 19                                         | 25                                                            |
| Poumon            | 18            | 12                                          | 12                                         | 13                                                            |
| Sein              | 15            | 15                                          | 13                                         | 15                                                            |
| Ovaire            | 10            | 10                                          | 9                                          | 10                                                            |
| Col utérin        | 1             | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| Corps utérin      | 1             | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| Estomac           | 2             | 2                                           | 2                                          | 2                                                             |
| Vésicule          | 1             | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| Hépatome          | 1             | 1                                           | -                                          | 1                                                             |
| Colon             | 1             | -                                           | -                                          | -                                                             |
| Pancréas          | 1             | 1                                           | -                                          | 1                                                             |
| Rein              | 5             | 4                                           | 4                                          | 5                                                             |
| Origine diverse   | 13            | 12                                          | 11                                         | 13                                                            |
| Hémopathie        | 5             |                                             |                                            |                                                               |
| Hodgkin           |               | -                                           | -                                          | -                                                             |
| Myélome           |               | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| Lymphosarcome     |               | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| Réticulosarcome   |               | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| Leucémie myéloïde |               | 1                                           | 1                                          | 1                                                             |
| T O T A L .....   | 100           | 88                                          | 77                                         | 92                                                            |



## CHAPITRE VIII

=====

### LIMITES ET COMPLEMENTARITE DES METHODES CYTOGENETIQUES ET CYTOLOGIQUES.

---

#### I - PLEURESIES BENIGNES : POPULATION TEMOIN

##### A - Analyse des résultats cytogénétiques

Sur 102 cas, nous avons fait 91 diagnostics exacts. Dans deux cas nous n'avons pas conclu et dans 10 cas nous avons répondu "suspect".

Donc, ces 12 cas soit 11,7% représentent les limites de la méthode :

##### A 1-1 - Absence de conclusion : 2

Il s'agit de deux pleurésies purulentes dont nous avons déjà signalé la difficulté d'observation des lames :

- les mitoses ne sont jamais observées,
- les éléments sont trop altérés pour être interprétables
- les difficultés techniques sont liées à la richesse en polynucléaires qui gênent le choc hypotonique et empêchent la fixation. Il y a impossibilité de conclure.

##### A 1-2 - Suspects : 10

##### A 1-2 a) Sur des critères chromosomiques : 2 cas

Des hyperploïdes sans anomalies de structure ont été notés dans ces deux cas.

Dans une pleurésie à éosinophiles au cours d'une connectivite, nous avons trouvé deux mitoses hyperploïdes. La résolution de l'épanchement et l'évolution ultérieure ont permis d'affirmer sa bénignité.



Dans l'autre cas, l'hyperploïde proche de la tétraploïdie, sans anomalie de structure a fait rendre une réponse suspecte car elle était associée à des noyaux un peu dysmorphiques. Il s'agissait d'une insuffisance cardiaque grave clinique, électrique qui réagissait de moins en moins au traitement digitalo-diurétique, le liquide se reproduisant à chaque phase de décompensation. Sur les deux autres caryotypes que nous avons pratiqués un ne présentait aucune anomalie, un autre des mitoses diploïdes normales et quelques noyaux un peu inhabituels.

L'intensité de la réaction pleurale conditionne l'apparition de cellules mésothéliales dysmorphiques avec parfois caryotype proche de la tétraploïdie.

A 1-2 b) Sur les critères nucléaires : 8 fois

Il s'agit de :

- 2 pleurésies d'origine cardio-vasculaire consécutives à une insuffisance cardiaque et à une embolie,
- 2 pleurésies d'origine virale
- 2 pleurésies tuberculeuses
- 1 pleurésie post-opératoire
- 1 pleurésie au cours d'une pancréatite chronique.

Dans 2 cas, les noyaux sont associés à des mitoses très altérées n'apportant aucun critère diagnostic : il s'agit d'une pleurésie post-embolique et d'une pleurésie virale.

Dans 3 cas, nous avons trouvé des mitoses diploïdes normales ; il s'agit de deux pleurésies tuberculeuses et d'une pleurésie virale ; et dans un cas des mitoses diploïdes normales et hypoploïdes : il s'agit d'une pleurésie après intervention sur le rein gauche.

Dans deux cas les mitoses étaient absentes.

La suspicion repose uniquement sur des dysmorphies nucléaires qui tout en n'évoquant pas franchement la malignité s'écartent cependant des normes habituelles (taille, nucléoles).



Une observation mérite d'être commentée : au cours d'une pancréatite apparaît un épanchement pleuro-péritonéal. Le diagnostic a été vérifié par la nécropsie.

Comme pour l'observation mentionnée dans la thèse de Solange PEILLON (66) nous avons rencontré les mêmes difficultés d'interprétation. Les éléments du liquide pleural ou péritonéal sont altérés, prenant parfois une morphologie suspecte. Peut-on invoquer le rôle des enzymes comme élément initiateur des transformations opérées sur le matériel nucléaire. Bien évidemment, ces mêmes transformations sont observées en cytologie.

### B - Résultats cytologiques

20 fois le liquide a été répondu classe III. Mais il faut mettre à part 5 liquides où la suspicion était fondée sur son caractère sanglant tout ou partie.

B-1 - Les hématies en trop grande quantité gênent la vision des autres éléments. En cytogénétique, nous n'avons pas d'hématies, celles-ci étant lysées lors du choc hypotonique permettant ainsi l'observation directe des éléments présents dans le liquide. Dans ce cas propre, la technique cytogénétique présente une supériorité sur la cytologie conventionnelle.

B-2 - Les 15 autres liquides pleuraux classe III, sont "suspects" par la présence de cellules irritées, pour la plupart d'origine mésothéliale, qui prennent un aspect différent par la taille, leur vacuolisation et la pluinucléation.

Au total, chaque méthode a ses frontières, mais il convient quand même de rappeler leur utile complémentarité, chaque faux pas d'une technique étant en partie contrebalancé par l'autre, puisque nous n'avons eu en définitive que 4 suspects concordants sur un total de 102 pleurésies bénignes, soit environ 4% de suspects pour 98% de diagnostics exacts.



## II - PLEURESIES MALIGNES

### 2-1 - Résultats cytogénétiques

Sur 100 pleurésies malignes, nous avons 88 diagnostics exacts. Dans 8 cas, nous avons répondu liquide suspect à contrôler, dans 3 cas nous avons eu des faux négatifs, et enfin un liquide acellulaire ininterprétable.

#### 2-1-1 - Liquide acellulaire : sans conclusion 1 cas

Il s'agit d'une métastase d'un néoplasme laryngé opéré 11 jours avant. On ne retrouve pas de traitement chimiothérapique précédant le prélèvement. Quelques noyaux sont emprisonnés dans la fibrine. Il n'y a pas de mitose. On ne peut conclure. En cytologie, le liquide est pauvre, mais les quelques éléments observables ont permis de conclure à la malignité.

#### 2-1-2 - Présence d'anomalies ne permettant pas d'affirmer la malignité de façon formelle :

Ce fut le cas 8 fois : 1 mésothéliome  
5 cancers du poumon  
1 cancer du rein  
1 cancer du colon

#### - Critères chromosomiques et nucléaires :

Ce fut le cas 4 fois :

- . 1 cas de cancer du colon : 1 mitose hyperploïde à 51 était isolée, mais l'environnement nucléaire rendait ce liquide très suspect.
- . 2 cancers du poumon : dans un cas, les mitoses sont à 46, mais il existe quelques noyaux dysmorphiques, parfois organisés en amas. Dans le second, des mitoses hypoploïdes voisinent avec des mitoses altérées, les noyaux sont de grande taille à chromatine claire, suspects.
- . 1 cancer du rein : on trouve des mitoses diploïdes, une hyperploïde à 90, donc proche de la tétraploïdie, sans anomalies de structure, et de rares noyaux isolés ou en placard, hyperchromatophiles, ou nucléolés, avec conservation d'un cytoplasme basophile. Ils sont très suspects.



Dans la moitié des cas, notre suspicion s'est fondée sur des critères chromosomiques et nucléaires. Dans l'autre moitié, il s'agit d'une suspicion reposant uniquement sur des critères nucléaires.

- Critères nucléaires seuls : 4 cas

Il s'agit de : 3 cancers du poumon

1 mésothéliome

Nous avons trouvé chaque fois des arrangements de noyaux suspects par leur forme, la couleur chromatinienne, leur nucléole. Mais ceux-ci étaient rares sur les préparations, et dans un cas de cancer du poumon, la qualité de celle-ci a été amoindrie par la présence de nombreux polynucléaires dont nous avons signalé plus haut les difficultés qu'ils représentent.

2-1-3 - Faux négatifs : 3

Il s'agit d'une maladie de Hodgkin au stade IV

d'un mésothéliome

d'un cancer du poumon

Pour le premier malade, la maladie de Hodgkin s'accompagnait d'une infiltration bronchique spécifique constatée à la fibroscopie. Ce malade qui présentait par ailleurs des localisations hépatiques, devait décéder rapidement. Lors du contrôle nécropsique, la plèvre n'était le siège que d'une pachypleurite non spécifique. Cependant, l'infiltration hodgkinienne massive bronchique et parenchymateuse nous empêche d'affirmer qu'il n'existait pas en un point limité de la plèvre une lésion de même nature.

Dans le cadre de la maladie hodgkinienne, les études cytogénétiques de notre laboratoire sur cellules de ganglions spécifiques n'ont pas permis de mettre en évidence des anomalies de nombre et de structure. Nous verrons dans le chapitre "Revue de la Littérature" qu'un cas similaire est rapporté (absence d'éléments dysmorphiques) DEWALD (17).

Pour les deux autres observations, il s'agit de faux négatifs certains.

2-2 - Résultats cytologiques :

Il a été donné 17 fois une réponse classe III, 5 fois une réponse classe I, et 1 fois le liquide fut inclassable.



a) Liquide inclassable : 1 cas

Il s'agissait d'un mésothéliome, où l'altération de tous les éléments cellulaires ne permettait pas de rendre une réponse.

b) Liquides suspects : 17 fois

Comme précédemment, on doit séparer 3 liquides pour lesquels la classe III fut répondue sur leur aspect sanglant uniquement.

Les 14 autres liquides classe III le sont sur l'aspect des éléments cellulaires.

c) Faux négatif :

Il s'agit de 2 métastases de cancer du poumon, d'un cancer du sein, d'une maladie de Hodgkin dont nous avons déjà parlé et d'un mésothéliome.

COMPLEMENTARITE

Nous avons déjà souligné l'avantage des techniques cytogénétiques dans les cas de liquides sanglants. En effet, la malignité a été affirmée 2 fois sur trois pour les liquides sanglants. Les résultats globaux font ressortir la complémentarité des deux méthodes car elles réduisent le nombre de faux négatif à 1%, et des suspects à 7%.



## CHAPITRE IX

=====

### ETUDE DES CAS PARTICULIERS

#### I - LES MESOTHELIOMES

La consécration d'un chapitre particulier aux mésothéliomes nous a paru justifiée, par l'abondance des **observations** ; le chiffre de 26 par rapport aux 100 pleurésies malignes, semblant très élevé.

A ce sujet, nous rappellerons par comparaison, que sur un total de 330 pleurésies malignes recueillies dans le service du Pr. GALY, 37 seulement correspondaient à des mésothéliomes.

Ce diagnostic de tumeur maligne primitive de la plèvre nous paraît cependant certain, en raison bien entendu des données anatomo-pathologiques recueillies lors des ponctions biopsies d'Abrams, des pièces d'excérèse ou des contrôles nécropsiques, mais également en raison des données cliniques radiologiques et de l'évolution.

Certains malades ont eu également des recherches précises de fibres d'amiante au niveau de la tumeur elle-même avec étude en microscopie électronique thèse de Marquet M. (52).

Cette fréquence inhabituelle est à rapprocher des conditions géographiques particulières de Saint Etienne, vaste dépression dans laquelle se rassemble l'activité industrielle stéphanoise. S'y ajoute dans la région, la présence de carrières dont on extrait le granulats routier, riche en fibres d'amiante de type amphibole.



Par ailleurs, le matériel génétique observé dans les mésothéliomes reste de choix, les mitoses étant présentes dans 81% des cas.

Enfin, chacun reconnaît la difficulté du diagnostic anatomo-pathologique des mésothéliomes, les disjonctions architecturales étant à ce point de vue plus significatives que la cellule mésothéliale elle-même, dont le caractère tumorale n'est jamais évident.

Bien au contraire, elle prend souvent un aspect plus inquiétant dans de simples hyperplasies réactionnelles. Un nouvel abord des malignités possibles nous paraît donc capital.

Les résultats comparés à ceux de la cytologie conventionnelle paraissent indiscutablement supérieurs, puisque la malignité a pu être affirmée sur des critères chromosomiques et nucléaires dans 21 cas sur 26, et dans 3 cas sur des critères nucléaires seuls, alors que la cytologie n'obtenait que 19 positifs sur 26. Cependant, la cytologie garde pour l'instant une supériorité par l'orientation étiologique qu'elle peut donner : dans 3 cas sur 26 le diagnostic cytologique de mésothéliome était soulevé.

Dans un cas de néoplasie confirmée, le caractère négatif de l'examen du liquide pleural (faux négatif) peut s'expliquer par l'intermittence de la desquamation de la prolifération tumorale. Par ailleurs, pour un malade, nous avons vu lors de deux caryotypes successifs à quelques jours d'intervalle se préciser la malignité cytogénétique, le premier prélèvement n'étant que suspect.

Nous avons un cas "suspect" sur les noyaux ; ceux-ci ne présentaient pas de dysmorphie véritable, et en l'absence de mitose, nous ne pouvions affirmer la malignité.

Dans les 21 cas sur 26 où nous avons obtenu des critères chromosomiques de malignité, il s'agissait le plus souvent d'hyperploïdie. 9 cas s'accompagnaient de marqueurs. Dans 4 cas, nous rappellerons qu'ils étaient au nombre de 2.



Les aspects cytogénétiques ne peuvent en aucun cas permettre de préciser l'origine des cellules malignes. L'exubérance des noyaux, l'hyperploïdie, les marqueurs sont également rencontrés dans les adénocarcinomes, et il nous est impossible de faire actuellement une différence entre les deux étiologies, lorsque nous examinons les noyaux interphasiques ou mitotiques des épanchements.

Certains auteurs (MOURIQUAND J. (60) ont proposé la mise en culture in vitro des cellules de liquides pleuraux : les cellules d'origine mésothéliale présentent un aspect "fenêtré" assez particulier, bien différent des cellules observées en cas d'hyperplasie mésothéliale ou des cellules malignes épithéliales.

Dans la thèse de TOURON (74) inspirée par le Dr. BERARD et le Dr. EMONOT, la valeur du dosage de l'acide hyaluronique a été soulignée, des taux supérieurs à 0,800 mg/ml, étant pratiquement significatifs d'un mésothéliome malin de la plèvre.

Il est certain que même en l'absence de preuve anatomo-pathologique, la conjonction d'un acide hyaluronique inférieur à 0,800 mg et d'un caryotype malin font faire le diagnostic de mésothéliome.

Ce fut le cas d'un de nos malades, que nous décidâmes de confier au chirurgien après 2 ans d'évolution d'une pleurésie chronique. La décortication confirma de façon formelle le mésothéliome malin.

Il est apparu que des taux d'acide hyaluronique inférieurs à 0,400 mg, associés à un caryotype malin doivent faire poursuivre les examens à la recherche d'un mésothéliome malin.

C'est dans ce cas qu'une étude au microscope électronique, dont l'utilisation est pour l'instant impossible, peut être justifiée. Certains auteurs LEGRAND (48), ont bien montré les caractères typiques pris par la cellule mésothéliale en microscope électronique, qu'il s'agisse de la forme maligne, fibroblastique ou indifférenciée.



Mais la cytologie, la cytogénétique et les dosages d'acide hyaluronique réunis sont parfois pris en défaut. La biopsie d'Abrams, elle-même répétée plusieurs fois, n'arrive pas toujours au diagnostic. Si la suspicion est assez forte, ces techniques particulières paraissent justifiées. Il est heureux de constater actuellement que la conjonction de ces diverses méthodes issues d'écoles différentes, arrive à cerner de façon très étroite le mésothéliome.

## 2 - LES EPANCHEMENTS BENINS AU COURS DE NEOPLASIES CONNUES (POUMON) 4 cas

Il s'agit de 4 observations de malades tous porteurs d'un cancer du poumon identifiées sur le prélèvement fait au cours d'une fibroscopie bronchique.

Dans ces 4 cas la biopsie d'Abrams n'objective pas d'envahissement et les cytologies sont classe.I. L'examen cytogénétique ne montre pas d'anomalie.

Nous n'avons aucune discordance et aucun faux positif. Il était donc intéressant de les classer à part dans la mesure où l'adjonction d'une technique supplémentaire permet d'affirmer avec plus d'assurance un diagnostic parfois difficile dans ces cas. Cette conjonction de tous les éléments n'est malheureusement pas toujours réalisée, chaque méthode présentant ses propres frontières.

MESSINETTI et Coll. (55) rapportent 3 cas d'épanchements au cours de cancer du poumon. Dans un cas seulement il retrouve des cellules néoplasiques avec anomalies chromosomiques majeures associées à des cellules diploïdes normales.

La cytologie était classe IV. Dans les deux autres cas toutes les mitoses sont diploïdes et l'auteur insiste sur la possibilité de pleurésies réactionnelles bénignes au cours d'un cancer pulmonaire.

## 3 - EPANCHEMENTS SURVENANT AU COURS D'EVOLUTION D'UNE NEOPLASIE DE VOISINAGE : 10 cas

Nous avons rassemblé dans ce cadre deux pleurésies au cours de cancers du poumon , trois pleurésies au cours de cancers oesophagiens, une



pleurésie au cours d'un cancer du sinus piriforme, 4 pleurésies au cours de cancers du sein.

a) Pleurésies au cours de cancers du poumon

Il s'agit de cancers siégeant respectivement sur la bronche souche gauche et sur la bronche intermédiaire droite, les épanchements se situant respectivement du côté envahi.

Dans un cas la biopsie d'Abrams ne peut être pratiquée et dans l'autre elle ne montre qu'une inflammation subaiguë chronique non spécifique.

La présence de cellules mésothéliales prenant un aspect dysmorphique fait classer les deux liquides classe III.

L'étude cytogénétique montre dans un cas des placards de cellules (conservation du cytoplasme malgré le choc hypotonique) et dans l'autre des mitoses trop altérées pour être analysées et de rares noyaux de grande taille avec gros nucléole d'allure suspecte.

Ces malades ayant été perdus de vue, nous n'avons pu porter un diagnostic de certitude.

b) Pleurésies au cours des cancers oesophagiens : 3 cas

M. ETHE... Observation n° 544 a subi une exérèse pour néoplasme du tiers inférieur de l'oesophage.

Dans les suites apparition d'une pleurésie droite et d'une parésie diaphragmatique gauche. La biopsie d'Abrams est non significative, la cytologie classe II.

En technique cytogénétique, l'enchevêtrement chromosomique rend les mitoses ininterprétables. Les noyaux de forme régulière, mais de grande taille entourés de cytoplasme sombre, plurinucléolés avec une chromatophilie excessive sont par contre très suspects.

Nous n'avons pas encore assez de recul pour juger bien que les circonstances soient davantage en faveur d'une pleurésie infectieuse ou embolique. (présence de nombreux polynucléaires éosinophiles en cytologie).



La constatation d'une adénopathie cervicale droite chez M. RIV... observation n° 22 196 amène à la découverte d'un néoplasme oesophagien.

La première biopsie d'Abrams est peu significative : hyperplasie mésothéliale simple.

La première cytologie est classe III.

Le premier examen cytogénétique montre de gros noyaux anormaux des mitoses hypoploïdes avec nombre modal à 30. L'ensemble est très suspect.

La deuxième biopsie d'Abrams répond mésothéliome malin.

La deuxième cytologie est classe I.

La deuxième cytogénétique : noyaux très altérés, 2 mitoses de mauvaise qualité. Pas d'interprétation.

Troisième biopsie d'Abrahms montre une importante pachypleurite évolutive.

La troisième cytologie note de nombreux noyaux sur lesquels le caractère cytologique de malignité est probable.

Le troisième examen cytogénétique répond mitoses hypoploïdes sans anomalie de structure évidente.

Le décès survient 2 mois après par métastase de la fosse cérébrale postérieure.

Mme CONS... Observation n° 9 521 a été traitée pour carcinome épidermoïde oesophagien par cobaltothérapie gauche, chez qui apparaît un épanchement gauche 4 mois après, réagissant bien aux corticoïdes, réapparaissant 2 mois plus tard. Envoyée en maison de repos, le liquide persiste dans le cul de sac. La radiographie du thorax montre des métastases pulmonaires parenchymateuses bilatérales.

La biopsie d'Abrams répond deux fois : pachypleurite subaiguë non spécifique.

La première cytologie est classe III.

Le premier examen cytogénétique répond mitoses à 46, noyaux anormaux, une mitose hyperploïde à 119 mais sans anomalie de structure.

La deuxième cytologie est classe III.

La deuxième cytogénétique réponds absence d'anomalie.

Notre conviction n'a jamais pu se faire de manière formelle.



c) Pleurésie au cours d'un cancer O.R.L.

M. DE... observation n° 19 960 est porteur d'un néoplasme du sinus piriforme découvert à la suite d'une adénopathie cervicale gauche. La radiographie pulmonaire montre des nodules métastatiques.

La cytologie est classe III.

L'examen cytogénétique répond liquide suspect : mitoses à 47 et 48 chromosomes, avec anomalies de structure probables mais la qualité de la préparation ne permet pas d'affirmer la malignité.

Le décès survenu très rapidement ne nous a permis de reprendre nos investigations.

d) Pleurésie au cours de cancer du sein

1ère observation :

Peu après la découverte d'un néoplasme du sein gauche chez Mme CHAS... observation n° 10 777, une pleurésie droite se constitue rapidement.

La biopsie n'a apporté aucun renseignement.

La cytologie est classe III avec éléments de nature maligne probable.

L'examen cytogénétique montre en l'absence de mitoses quelques noyaux de grande taille richement nucléolés.

2ème observation :

6 mois après une mastectomie pour adénocarcinome mammaire stade II, est apparue une pleurésie gauche avec adénopathies axillaires et sus-claviculaires chez Mme NE... observation n° 9 780.

La biopsie d'Abrams est non significative.

La cytologie classe I a un aspect de pleurésie prépurulente.

L'examen cytogénétique montre des mitoses à 46 dont 3 sont suspectes. Les noyaux ont des arrangements et une morphologie inhabituels suspects. L'état de la malade s'améliore sous chimiothérapie hormonale.

3ème observation :

Mme JOU... observation n° 9 566 a été opérée d'un cancer du sein en 1970. Deux ans après est apparu un épanchement bilatéral réagissant bien au



traitement corticoïde.

La biopsie d'Abrams ne note aucune figure d'inflammation spécifique.

La cytologie est classe III mais très suspecte.

L'examen cytogénétique ne montre pas de mitoses, mais des noyaux très dysmorphiques à chromatine lâche en faveur d'un processus malin.

#### 4ème observation :

Mme REY... observation n° 9 881 a subi une opération de Halsted 8 ans avant l'apparition d'une pleurésie gauche avec atteinte importante de l'état général.

La biopsie d'Abrams est non significative.

La cytologie est classe I.

En cytogénétique nous avons de grands noyaux clairs à chromatine très lâche, très suspects. Les mitoses sont à 46, diploïdes d'aspect normal. Elles n'ont pas été dénaturées.

Le décès a lieu deux mois plus tard provoqué par de vraisemblables métastases cérébrales.

Le caractère commun à toutes ces observations est la présence d'une néoplasie au voisinage de la plèvre puisque même dans le cas de la tumeur ORL il y avait des métastases pulmonaires.

S'agit-il d'une extension, d'une simple irritation de voisinage, ou d'une pathologie surajoutée.

Dans les 10 observations, rien n'a permis de conclure formellement à une pleurésie métastatique, ni la biopsie d'Abrams, ni l'examen cytologique, ni l'examen cytogénétique. Nous n'avons pas suffisamment de recul pour avoir des arguments évolutifs.

Cependant, les examens sur les cellules des liquides ne donnent pas de résultats discordants. Dans le cadre de la deuxième observation du cancer de l'oesophage, la cytogénétique constatait la présence de mitoses hypoploïdes avec un nombre modal de 30 ; des noyaux de grande taille étaient également présents et cependant les critères absolus de malignité faisaient défaut : absence d'anomalie de structure chromosomique et absence de dysmorphie nucléaire vraie. Il apparaît que nous avons été très stricts avec les critères



chromosomiques de malignité.

#### 4 - POLYSERITES

L'association d'un épanchement pleural et péritonéal pour lequel nous avons réalisé une étude cytogénétique a été notée 10 fois. Il s'agit de deux polysérites de nature bénigne et de 8 polysérites de nature maligne.

##### a) Polysérites bénignes : 2 cas

- Une pancréatite chronique.

Nous avons déjà mentionné cette polysérite au cours d'une pancréatite chronique : tant dans le liquide pleural que ascitique, les éléments étaient altérés avec présence de quelques noyaux dont la morphologie était suspecte.

La cytologie était classe III très suspecte. Le diagnostic fut certifié à l'autopsie.

- Un syndrome de Demons-Meiggs

La bénignité d'un épanchement pleuro-péritonéal, dont la cytologie est classe I, dont l'étude cytogénétique n'a trouvé aucun critère de malignité est confirmée par la découverte opératoire d'une tumeur ovarienne régulière sans bourgeonnement (kyste sereux sans caractère de malignité)

##### b) Polysérites malignes : 8 cas

Il s'agit de :

- un hépatome greffé sur cirrhose
- un cancer vésiculaire
- 3 adénocarcinomes ovariens
- un adénocarcinome d'origine indéterminée
- deux mésothéliomes pleuro-péritonéaux. Dans une de ces deux observations, il faut signaler que la localisation péritonéale du mésothéliome est apparue 4 ans après la localisation pleurale.



La comparaison des lames obtenues à partir du liquide pleural et du liquide péritonéal a permis de démontrer la présence de dysmorphie identique dans chacun des deux épanchements.

Les noyaux sont de même type, taille, chromatophilie, et arrangements soit isolés soit en plages. Lorsque les mitoses sont présentes, le type d'aneuploidie reste le même et en présence de marqueurs on retrouve des analogies frappantes. La parenté entre les cellules des deux épanchements semble certaine, un même clone pouvant être à l'origine de la maladie néoplasique.

Il est bien évident que dans le cadre de nos 8 observations, chaque malade possède dans ses cellules néoplasiques une dysmorphie personnalisée.

#### 5 - CORRELATION, EVOLUTION, TRAITEMENT ET ANOMALIES CYTOGENETIQUES :

Rôle de l'évolution et des traitements chimiothérapiques.

Nos observations portent toutes sur les mésothéliomes malins de la plèvre. Ceci est dû à l'intérêt particulier que nous y portons d'une part, et d'autre part parce qu'ils fournissent un abondant matériel d'étude.

##### - évolution

En novembre 1973, M. PAT... observation n° 20 777 entre dans le service pour une pleurésie traînante, le début remontant à un mois environ. La biopsie d'Abrams ne peut être faite car il n'y a pas assez de liquide. Un examen cytologique du liquide pleural est classe III et en cytogénétique, nous notons la présence de quelques gros noyaux à gros nucléoles évoquant les noyaux des cellules néoplasiques mais l'étalement est en général pauvre : il y a suspicion de malignité.

Deux mois plus tard, l'examen cytogénétique retrouve ces mêmes noyaux malins, mais en plus grand nombre ; l'étalement restant pauvre. La cytologie est alors classe IV. Entre les deux prélèvements, le malade n'a eu qu'un traitement anti-inflammatoire et antalgique. Au cours de cette hospitalisation, la biopsie d'Abrams permet d'affirmer le mésothéliome malin de la plèvre, ainsi que l'acide hyaluronique à 0,950 mg/ml.



On se contente d'un traitement symptomatique. Quatre ans après le début de l'affection, apparition d'une ascite à renouvellement rapide. Le prélèvement du liquide ascitique montre un étalement riche avec présence de deux mitoses à 80 et de noyaux malins dont la morphologie rappelle celle des noyaux observés dans le liquide pleural 4 ans auparavant.

Un prélèvement de liquide pleural est réalisé deux jours plus tard. Le liquide montre un aspect grailleux, l'étalement est ininterprétable, la majorité des cellules étant en voie de lyse.

Dans cette observation privilégiée, la discrétion des signes cytogénétiques de malignité correspond à la lenteur de l'évolution.

#### - Influence des traitements

##### 1ère observation :

Monsieur TAR... observation n° 22 413 présente un mésothéliome malin de la plèvre. La cytogénétique met en évidence une aneuploïdie associée à des éléments nucléaires anormaux. La cytologie est classe III. Le malade reçoit du Degranol in situ et du 5 Fluoro-uracile par voie parentérale. Six mois plus tard, la pleurésie persiste. Un nouvel examen cytogénétique note la pauvreté du liquide en éléments figurés, l'absence de mitose, mais la persistance des éléments nucléaires inhabituels.

Si la thérapeutique a eu une action suppressive, elle n'a pas été totalement efficace ce qu'en témoignent les éléments nucléaires inhabituels et la persistance d'un petit épanchement.

##### 2ème observation :

Elle concerne M. IMB... observation n° 23 509, porteur d'un mésothéliome malin de la plèvre. Le premier prélèvement avant traitement chimiothérapique montre en cytogénétique des anomalies de nombre à type d'hyperploïdie et de nombreux noyaux malins. La cytologie est classe IV.

Le second prélèvement, après 3 semaines de traitement montre la présence de noyaux de cellules mésothéliales et de lymphocytes. Il n'y a pas de mitoses ni de noyaux franchement anormaux. Seuls quelques regroupements



semblent suspects

L'évolution s'est stabilisée sous traitement, ce qu'en témoigne les techniques cytogénétiques.

3ème observation :

Mme OL... observation n° 9 265 est hospitalisée pour pleurésie gauche. La première biopsie fait évoquer une étiologie cardiaque. Les tomographies pleurales pulmonaires montrent une plèvre festonnée à gauche. Le premier prélèvement en cytogénétique montre des anomalies de nombre et de structure de chromosome dont deux anneaux, et des noyaux malins. La cytologie est classe III. Une seconde cytologie pratiquée quelques jours plus tard est classe I. Mais la clinique est très en faveur du mésothéliome, ce que vient confirmer un nouveau prélèvement biopsique deux mois et demi après le premier. Un traitement à base de 5 FU par voie parentérale et de Dégranol in situ a auparavant été entrepris.

Deux mois après le début du traitement, un nouvel examen cytogénétique reste très en faveur de la malignité avec anomalies de nombre, un anneau, un environnement nucléaire malin. La cytologie **est** classe IV.

Le liquide se reproduit rapidement, l'état général s'altère de plus en plus et nous laissons sortir la malade.

Le traitement n'a aucunement induit de modifications cytogénétiques parallèlement à l'état général qui s'altère.

A la suite de cette étude, les critères cytogénétiques suivant fidèlement la scène clinique, on peut dire qu'ils peuvent représenter un contrôle de l'efficacité thérapeutique.

Dans le cadre d'étude des ascites, FRAISSE J. et FRAISSE H. (25-27) ont déjà pu constater les effets de traitements antiméiotiques dans deux observations : dans un cas, la disparition des anomalies chromosomiques est concomitante de la rémission obtenue par le traitement, celles-ci réapparaissant identiques lors de la rechute ; dans la seconde observation, la persistance des anomalies chromosomiques est parallèle à la scène clinique qui n'a pas subi de rémission.



MESSINETTI en 1969 avait déjà noté ce phénomène et il accordait une grande importance à l'examen cytogénétique en cours de traitement chimiothérapique. Ce serait un outil valable pour la surveillance du processus évolutif.

## 6 - COMMENTAIRES DE CERTAINES OBSERVATIONS ATYPIQUES

### 1ère observation :

M. MIAL... observation n° 21 904 est hospitalisé pour une pleurésie droite. La biopsie d'Abrams répond pachypleurite non spécifique active, mais la cytologie est classe IV., et en cytogénétique on note des noyaux néoplasiques avec des mitoses à 46 ou hypoploïdes ; le diagnostic cytogénétique repose sur des critères nucléaires. L'ensemble des examens, au demeurant peu nombreux, car la régression de la pleurésie sous simple traitement anti-inflammatoire et la reprise de l'état général sont rapides, est négatif.

On conclut donc à une pleurésie d'origine virale et on se pose le problème des erreurs de laboratoire sous l'influence des agressions virales. Le malade sort complètement guéri 3 semaines après son entrée avec un traitement anti-inflammatoire qu'il ne suit pas.

En consultation, deux mois plus tard, on ne note pas de récurrence de la pleurésie, mais le malade se plaint d'un état général médiocre. L'examen est négatif.

Quatre mois après, le malade est néphrectomisé pour une tumeur rénale à cellules claires. L'épanchement se renouvelle en même temps qu'apparaît sur la radiographie pulmonaire un lâcher de ballons, Monsieur VIAL... décède peu après.

### 2ème observation :

Observation n° 617 - service Docteur BOUQUIN.

M. GA... est hospitalisé pour la première fois le 1.3.72 pour oedème aigu à répétition chez un malade porteur d'un infarctus post-latéral. Son état s'améliore avec un traitement d'entretien cardiaque sans anti-coagulant en raison de son âge et d'antécédents hémorragiques intestinaux graves dus à son



éthylisme. Le malade revu à différentes reprises ne présente aucune altération par rapport à sa sortie.

Un an après sa sortie, M. GA... décrit un état grippal avec crachats hémoptoïques qu'il aurait eu au début de l'année. Au cours de cette hospitalisation, il est découvert un épanchement pleural droit avec une image localisée dans le lobe supérieur droit. On ponctionne le liquide pleural. Le diagnostic de pleurésie maligne est évoqué et le malade sort sans traitement spécial. Durant son séjour, la cytologie du liquide pleural répond classe IV et la cytologie montre un tapis de noyaux néoplasiques de très grande taille, ronds lunaires, polylobés avec un gros nucléole central, de très rares mitoses, soit à 46 soit hypoploïdes. Un nouvel examen cytogénétique 13 jours après le premier retrouve les mêmes anomalies nucléaires et des mitoses hypoploïdes.

Un mois et demi plus tard, le malade revient dans le service tant les manifestations fonctionnelles occasionnées par l'épanchement étaient importantes et les recherches bactériologiques sur crachats, culture et innoculation reviennent positives deux mois plus tard pour le B.K. On met en route un traitement anti-bacillaire et rapidement l'état général s'améliore : assèchement de la pleurésie qui auparavant nécessitait des ponctions hebdomadaires, reprise du poids, disparition des manifestations fonctionnelles. Le malade sort du service.

Six mois après le liquide pleural réapparaît et un troisième examen cytogénétique montre les mêmes noyaux malins et des mitoses où les anomalies de nombre allant de 30 à 73 chromosomes sont associées à des anomalies structurales : deux-grands marqueurs médian et distal et des pertes sélectives du groupe B apportent les critères absolus de malignité.

La preuve formelle de l'origine néoplasique de l'épanchement est reconnue quelques mois plus tard par la mise en évidence d'un cancer pulmonaire droit.

Ces deux observations appellent quelques remarques :

- les critères de malignité cytologique et cytogénétique ont été acquis précocément, dans un cas, 4 mois avant la mise en évidence de la tumeur primitive et dans l'autre, un an auparavant.



- les modalités évolutives de ces épanchements ont dérouté les cliniciens tant elles sont peu conformes à la progression habituelle des néoplasies surtout dans la deuxième observation où une association morbide a totalement "brouillé les cartes".

Si donc on a pu remettre momentanément en cause le diagnostic cytogénétique de malignité, qui dans les deux cas a été porté sur des critères nucléaires au début, on note sa grande fiabilité et l'intérêt qu'il y a à l'associer à la cytologie au tout début, celle-ci ayant été aussi remise en cause.

#### 7 - CANCER A EVOLUTION PROLONGEE OU FAUX POSITIF ?

Monsieur MAT... observation n° 21 762, âgé de 60 ans est hospitalisé pour une pleurésie droite à révélation brutale et douloureuse.

- la biopsie d'Abrams n'a pu être pratiquée car il n'y avait pas assez de liquide.

- la cytologie du liquide est classe III avec éléments très altérés dont certains sont franchement suspects.

- l'examen cytogénétique est par contre affirmatif :

4 mitoses à 46, 3 hypoploïdes à 33, 35, 36 chromosomes. Enfin, deux mitoses hyperploïdes avec pulvérisation des chromosomes apportent les critères absolus de malignité. On trouve aussi de gros noyaux richement nucléolés.

- le bilan pratiqué : radiographie gastro-duodénale, biliaire, lavement baryté, n'apporte rien. Seule une deuxième radiographie pulmonaire montre l'apparition d'un infiltrat hilifuge. On entreprend un traitement au 5 FU. Le malade quitte le service avec prescription de 5 Fu à intervalles réguliers. Les cures ont été suivies au départ puis le malade semble avoir abandonné son traitement. Les renseignements récents nous apprennent que 4 ans après le début de l'affection le malade est vivant, mais nous n'avons pas de données complémentaires.

Il est difficile d'apporter une conclusion valable à ce cas. Deux hypothèses sont envisagées :



- ou bien, les critères chromosomiques ont été pris en défaut, et l'hyperploïdie avec pulvérisation chromosomique serait liée à une cause virale par exemple.

- ou bien il peut s'agir d'une rémission de la maladie néoplasique obtenue après traitement épisodique anti-mitotique ou d'une évolution naturelle prolongée.



RE V U E   D E   L A   L I T T E R A T U R E  
=====   ===   ===   =====

De nombreux travaux concernant les anomalies chromosomiques des cellules malignes ont été effectués.

Nous nous limiterons ici à regrouper ceux qui ont envisagé l'étude chromosomique comme moyen diagnostic des affections malignes.

La plupart des auteurs ont établi une comparaison entre leurs résultats et les résultats de l'examen cytologique (Papanicolaou) classique.

Les résultats varient selon les observateurs mais ils sont en réalité conditionnés par la méthodologie adoptée.

Nous envisagerons donc les conditions de travail de chaque auteur afin de tirer des conclusions cohérentes de l'étude de ces différentes publications.

Nous citerons par ordre chronologique les travaux suivants :

BENEDICT et PORTER 1972 (4)

FRAISSE J. et BERARD J. 1972 (thèse de Montarry) (57)

MILES 1973 (56)

HANSSON et KORSGAARD 1974 (36)

CASINI 1975 (12)

QUINONES 1976 (68)

DEWALD 1976 (17).

Nous reprendrons successivement les différents paramètres de la méthodologie de ces études.

- le recrutement des malades et leur nombre ;
- le choix des techniques utilisées ;
- la définition des critères de malignité adoptés.



Nous envisagerons enfin la comparaison des résultats des examens cytogénétiques et cytologiques.

1° - Le recrutement des malades, leur nombre

Pour la majorité des auteurs, les malades ont été présélectionnés : ce sont des porteurs de néoplasmes connus.

C'est le cas pour MILES dont les malades sont non seulement choisis parmi des porteurs d'épanchement malin mais sont en outre des malades traités soit par chimiothérapie soit par radiothérapie, parfois par une association des deux méthodes.

Son étude concerne 58 malades porteurs d'un épanchement pleural ou ascitique. 128 examens ont été nécessaires pour obtenir des préparations lisibles. Il est bien admis que les traitements altèrent considérablement le matériel cellulaire et le choix des malades nous semble peu propice à une étude statistique.

- HANSSON et KORSGAARD ont examiné des liquides pleuraux exclusivement : ils avaient été trouvés suspects par les méthodes cytologiques. 15 malades ont été ainsi sélectionnés.

- QUINONES étudie également des liquides pleuraux chez 23 malades porteurs d'un néoplasme connu. L'examen cytologique est fait parallèlement sur un échantillon du même prélèvement.

- CASINI rapporte des résultats concernant des liquides soit d'ascite soit de pleurésie, épanchements survenant chez des malades porteurs d'un néoplasme de type varié. 22 cas sont étudiés et l'examen cytologique est fait parallèlement.

- BENEDICT et PORTER n'ont pas sélectionné systématiquement leurs patients. Sur 45 examens, 9 concernaient des patients atteints de cirrhose ou de défaillance cardiaque, 24 avaient un diagnostic cytologique de malignité, et 12 étaient suspects d'affections néoplasiques : 4 ayant eu un examen négatif en cytologie et 8 un examen suspect.



- Une absence de sélection des malades caractérise le travail sur les épanchements pleuraux de J. FRAISSE et J. BERARD qui a fait l'objet de la thèse de MONTARRY en 1972. Il s'agit d'examen systématique sur tout sujet présentant un épanchement.

- DEWALD en 1976 publie une remarquable statistique. Absence également de sélection pour les 104 cas étudiés. Le nombre de malade porteur d'une affection maligne est très élevé : 82 sur 104 mais le recrutement introduit un biais statistique il s'agit de la Mayo Clinic à Rochester.

## 2° - Les techniques employées

Dans la majorité des publications, les techniques cytogénétiques rapportées sont très proches de celles que nous avons employées.

Tous les auteurs insistent sur le bref délai qui doit séparer la ponction de l'examen.

Les centrifugations permettant d'obtenir une concentration cellulaire sont toujours lentes : 800 tours minutes et le temps varie de 10 à 15 minutes, ce qui est suffisant pour des quantités de liquide réparties en tubes de 20 à 30 ml.

Seul MILES s'écarte des normes, puisqu'il répartit les 1000 ml en 4 lots de 250 ml qui sont centrifugés 5 minutes à 800 tours minute.

Ce temps nous semble très insuffisant pour isoler un culot cellulaire dans un volume de 250 ml.

Il semble bien que réside là une des causes des échecs de MILES qui a du faire 128 prélèvements pour obtenir à partir de 58 malades du matériel d'étude.

La réalisation du choc hypotonique répond aux normes classiques : les solutions salines utilisent des ions différents mais le principe reste le même.



Le mode de fixation et d'étalement sont classiques : alcool-acide 3~~vol~~/1 vol. Lames dégraissées et refroidies - Séchage à l'air chaud.

### 3° - Les critères de malignité

Ils conditionnent l'expression des résultats. Certains auteurs sont plus exigeants que d'autres. Ceci est vrai pour MILES qui ne retient que les anomalies "grossières" : ainsi l'hyperploïdie n'est prise en considération qu'au-delà de 54 chromosomes (chiffre qui nous a paru arbitraire). Au-dessous de 54 chromosomes l'auteur demande la caution de deux marqueurs pour que le diagnostic de malignité soit retenu. Les mitoses ne remplissant pas ces conditions sont classées dans le groupe "ambigu". De telles exigences peuvent paraître surprenantes mais nous rappelons que MILES a choisi pour sujets de son étude des malades en cours de traitement et il redoute les artéfacts liés à l'action des anti-mitotiques.

BENEDICT ne définit pas très exactement ses critères : "l'aneuploïdie" sans autre précédent est signalée dans ses résultats positifs. Les autres auteurs admettent généralement comme critère absolu de malignité l'hyperploïdie associée à l'anomalie de structure : ces deux caractères peuvent être repérés par l'observation directement à l'examen des lames : pour DEWALD 3 mitoses de ce type suffisent pour établir le diagnostic de malignité. Notre expérience confirme ce critère.

Les hypoploïdies ne sont acceptées comme critère de malignité que sous réserve d'un examen approfondi. La perte sélective d'un ou plusieurs chromosome peut être un argument en faveur d'un clone malin, de même la présence d'un marqueur. Le plus souvent, si l'hypoploïdie n'est pas associée à une anomalie de structure, les auteurs insistent sur la possibilité d'un artéfact.

#### - Les mitoses à 46 chromosomes

Les auteurs s'accordent pour reconnaître l'association de cellules diploïdes normales avec des cellules anormales : elles sont la représentation de la population mésothéliale et lymphocytaire (CASINI, QUINONES). On les



retrouve plus fréquemment dans les épanchements pleuraux que dans les épanchements ascitiques (FRAISSE J.).

Maïs les auteurs signalent la possibilité de mitoses pseudo-diploïdes et certains insistent sur leur intérêt. Les déviations minimales ne sont pas visibles en technique standard ; leur mise en évidence doit être tentée : ainsi COUTINHO et HANSSON préconisent l'utilisation des techniques des bandes (bandes Q, bandes G) pour différencier diploïde et pseudo-diploïde. Pour CASINI une déviation minimale de l'équipement chromosomique peut être le départ d'un clone néoplasique, les altérations profondes, les modifications ne s'extériorisant que tardivement. Pour lui la découverte d'une pseudo-diploïde pourrait être synonyme de diagnostic précoce. D'où la nécessité des techniques de bandes.

#### - L'absence de mitoses

La majorité des auteurs n'aborde pas ce problème. Le nombre de cas étudiés est souvent réduit et il est possible que dans de petites séries le hasard ait été favorable, ou bien les auteurs ont volontairement omis de rapporter ces cas.

Pour HANSSON et KORSGAARD cette éventualité n'est pas mentionnée dans les 15 cas qu'ils ont étudiés. Pourtant ils en évoquent la possibilité : "L'absence de mitose et par corollaire l'absence de déviation chromosomique est un élément qui contribue à un diagnostic d'exclusion de malignité."

S'il est exact que l'absence de mitose est beaucoup plus fréquemment relevée dans les cas d'épanchements non malins : 23% contre 3,5 % dans les épanchements malins dans la statistique de DEWALD il serait cependant très imprudent d'en faire un critère de bénignité.

#### - Les anomalies nucléaires

Aucun des auteurs n'a utilisé la morphologie des noyaux interphasiques telle qu'elle apparaît avec les techniques de cytogénétique. Tous se sont bornés à étudier des données chromosomiques.



Il nous a semblé cependant que cet aspect méritait d'être pris en considération et le complément d'information qui nous a été apporté par l'étude des noyaux n'est pas négligeable.

#### 4° - La comparaison des résultats

La comparaison des résultats obtenus par l'examen cytologique et l'examen cytogénétique n'aboutit pas toujours aux mêmes conclusions.

Les appréciations des auteurs sont fonction des conditions d'examen. Il est bien évident que nous adoptons un postulat de base : celui de la compétence des observateurs.

Pour MILES, il semble bien établi que les conditions de l'examen aient été particulièrement défavorables à la cytogénétique.

- malades en cours de traitement, donc matériel altéré ;
- conditions de récolte des cellules imparfaites (centrifugation insuffisante)
- critères de malignité : grossiers.

Les résultats sont peu satisfaisants : sur 58 malades atteint d'un épanchement néoplasique, seuls 21 ont un examen permettant de conclure à la malignité soit 35% alors que la cytologie pratiquée sur échantillons du même prélèvement (100 ml) est positive 38 fois soit dans 65% des cas.

Compte tenu des difficultés techniques<sup>et</sup> de la quantité de liquide "nécessaire" (1000ml) MILES n'hésite pas à qualifier la méthode cytogénétique de méthode ancillaire.

Pour cet auteur, la cytologie reste très supérieure. Il termine tout de même sur une note auto-critique : "Peut-être la méthode serait-elle d'un meilleur rendement si elle était appliquée à des malades non traités".

Pour BENEDICT et PORTER nous trouvons des conclusions opposées : les techniques de cytogénétique sont très supérieures aux techniques de cytologie. Sur 36 malades atteints d'affection néoplasiques : 24 examens sont positifs par des méthodes cytologiques classiques ; 8 sont suspects et 4 négatifs. Dans ces



12 cas, l'examen cytogénétique met en évidence des anomalies de type aneuploïdie associée ou non à des marqueurs permettant de faire le diagnostic de malignité.

QUINONES trouve aussi des résultats en faveur de la cytogénétique : 23 malades ont été examinés parallèlement, un échantillon du même prélèvement étant adressé à chacun des 2 laboratoires : 30,4% sont négatifs en technique cytogénétique et 56,5% en technique cytologique. Soit un écart de 26% en faveur de la cytogénétique.

Le nombre de malades n'est pas très élevé et lorsqu'on se réfère à des chiffres plus importants, il nous est apparu que les différences s'estompent.

En 1972, 100 cas d'épanchements pleuraux étaient rapportés dans la thèse de MONTARRY : 42 étaient d'origine néoplasique - le diagnostic positif avait été fait dans 77% des cas en technique cytogénétique et dans 69% des cas en technique cytologique soit un écart de 8%.

Sur les 104 cas étudiés par DEWALD 82 sont porteurs d'un épanchement néoplasique contrôlé : 53 malades soit 65% ont été correctement diagnostiqués par l'examen cytologique, 58 soit 71% par les méthodes cytogénétiques. Parmi les 82 malades, 13 étaient porteurs d'une hémopathie. La cytologie a pu faire le diagnostic de malignité dans 4 cas soit 31%, la cytogénétique dans 11 cas soit 85%.

La combinaison des deux méthodes cytologiques standard et analyse chromosomique a permis finalement de faire le diagnostic dans 83% des cas de pleurésies néoplasiques.

DEWALD conclut en soulignant l'importance de ce résultat qui est meilleur que le résultat de chaque technique prise isolément.

C'est à cette conclusion que nous sommes également parvenus : les deux méthodes sont complémentaires et leur association permet de réduire la marge des examens erronés.



## C O N C L U S I O N S

=====

Le travail présenté vise à préciser l'apport des techniques cytogénétiques au diagnostic des épanchements pleuraux, la recherche de la malignité restant l'objectif principal.

249 dossiers ont été dépouillés pour lesquels deux impératifs ont été dans tous les cas respectés :

- 1 - Nous avons pu pour chaque cas faire un diagnostic précis sur l'ensemble des données cliniques et paracliniques.

- 2 - C'est le même échantillon de liquide qui est parvenu au laboratoire de cytologie conventionnelle et de cytogénétique.

C'est pourquoi, nous avons dû éliminer 47 malades. Nous avons donc retenu 202 dossiers.

- 102 dossiers ont pu être considérés comme correspondant à des épanchements certainement bénins, ces 102 observations constituent une population témoin.

- pour les 100 cas d'épanchements pleuraux d'étiologie maligne, nous avons retenu deux sortes de critères de malignité.

### 1°) Les critères chromosomiques

=====

#### a) Anomalies de nombre

- l'hyperploïdie anarchique répétée constitue un critère absolu de malignité,

- l'hypoploïdie vérifiée sur un nombre important de mitoses permettant de définir un nombre modal associée à des pertes ou gains sélectifs de 1 ou plusieurs chromosomes, est le reflet d'un clone malin,



- pour les pseudodiploïdes, une dénaturation identifiant les anomalies de structure chromosomique non repérables en technique standard est nécessaire pour parler de processus malin.

b) Anomalies de structure

Elles sont variables, de nombreuses recombinaisons chromosomiques étant possibles.

La présence d'un chromosome modifié retrouvé dans plusieurs mitoses appelé marqueur, définit l'existence d'un clone cellulaire malin.

Hyperploïdie + marqueur sont un critère absolu de malignité.

Les critères chromosomiques de malignité quand nous les avons trouvés (73% des cas) ont toujours été doublés d'un environnement nucléaire particulier nous permettant de définir

2°) des critères nucléaires de malignité : taille, morphologie nucléoles, =====  
chromatophilie, arrangements. Nous avons eu recours à ces critères nucléaires quand les anomalies chromosomiques étaient absentes.

La justification de notre méthode est apportée par les résultats. Pour les pleurésies bénignes : dans 88,2% des cas l'absence d'anomalies est en faveur de la bénignité. Dans 98% des cas, la présence d'éléments suspects nécessite un contrôle : 2% des liquides sont ininterprétables.

Aucun faux positif n'est à déplorer.

Utilisant les critères précités, nous avons fait un diagnostic de malignité dans 73% des cas sur des arguments chromosomiques et nucléaires, dans 15% des cas sur les noyaux seuls, soit un total de 88%. Nous avons retenu



8% des épanchements comme suspects et nous avons 3 faux négatif. Parmi ces 3 faux négatif, nous avons une maladie de Hodgkin pour laquelle nos investigations parallèles sont toutes négatives. Enfin, dans un cas, la pauvreté du liquide ne nous a pas permis de rendre une conclusion.

Notre taux de positivité a été de 100% pour les métastases d'origine génitale (27 cas) et peu différent de 93% pour les mésothéliomes malins primitifs de la plèvre (24 cas sur 26), ce qui représente un appoint diagnostic considérable pour ces tumeurs primitives de la plèvre dont la réalité est parfois difficile à affirmer.

Les techniques cytologiques standards donnent les résultats suivants:

|                                    |     |
|------------------------------------|-----|
| - malignité (classe IV ou V) ..... | 77% |
| - suspect (classe III) .....       | 17% |
| - Faux négatif (classe I) .....    | 5%  |
| - liquide inclassable .....        | 1%  |

Plus qu'une supériorité quantitative des résultats obtenus par l'examen cytogénétique sur la cytologie, il faut retenir l'utile complémentarité des deux méthodes puisque le couplage des deux techniques permet d'élever le pourcentage de diagnostic de malignité à 92%.

C'est à cette même conclusion que DEWALD G. parvient. Il obtient sur 82 épanchements malins 71% des résultats positifs en cytogénétique, la cytologie étant positive dans 65% des cas. En combinant les deux méthodes, il aboutit à un pourcentage de 83% de diagnostic de malignité.

Il est intéressant de noter que les critères chromosomiques nous ont permis d'établir un diagnostic dans 73% des cas. Nos méthodes et nos résultats sont jusqu'ici identiques. Par contre, l'observation des noyaux interphasiques en l'absence de mitoses anormales nous a permis de faire un diagnostic de malignité dans 15% des cas.



De cette méthode dont les résultats prouvent l'apport incontestable au diagnostic de malignité, il convient de signaler la rapidité avec laquelle une réponse peut être rendue : dans les 24 heures. Un simple examen des lames effectué par un personnel entraîné est suffisant dans la grande majorité des cas.

Le diagnostic étiologique reste encore très problématique ; chaque expression chromosomique d'un état néoplasique semble personnalisée. Elle est propre au malade et non en relation avec le type histologique de la tumeur.

Seul le carcinome ovarien peut garder un profil reconnaissable dans la majorité des cas.

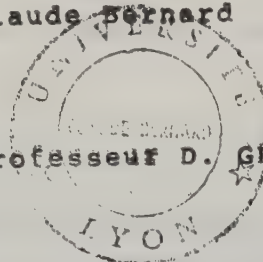
Directeur de l'U.E.R.  
de MEDECINE,

CABAL

Le Président de la thèse,

VU ET PERMIS D'IMPRIMER  
Lyon, le 12 octobre 1977  
Le Président de l'Université  
Claude Bernard

Professeur D. GENVAIN





## B I B L I O G R A P H I E

=====

- (1) ARRIGHI F.E., HSU T.C.  
Localization of heterochromatin in human chromosomes.  
Cytogenetics 10, 81-86 (1971).
- (2) ATKIN N.B., MATTISON G., BAKER M.C.  
A comparison of DNA content and chromosome number of fifty human tumours.  
Brit., J. Cancer. 20, 87-101 (1966).
- (3) AYRAUD N.  
Identification par dénaturation thermique ménagée des anomalies chromosomiques observées dans six tumeurs métastatiques humaines.  
Biomédecine 1975, 23, 423-430
- (4) BENEDICT W.F., PORTER I.H.  
The cytogenetic diagnosis of malignancy in effusion.  
Acta Cytol., 16, 304-306 (1972).
- (5) BERGER R.  
Sur la méthodologie de l'analyse des chromosomes des tumeurs.  
Thèse doctorat Sci. Nat. (Paris) (1968).
- (6) BERGER R.  
Aberrations chromosomiques et radiations ionisantes.  
Rev. Europ. études clin. et Biol., 15, 375-381 (1970).
- (7) BERGER R.  
Anomalies chromosomiques constitutionnelles et néoplasies.  
Presse médicale, 79, 1107-1109 (1971).
- (8) BERGER R., LACOUR J.  
Anomalies chromosomiques dans un cancer de l'ovaire.  
Path. Biol., 22, n° 27, 603-606 (1974).



- (9) BLOOM A.D., NERIISHI S., KAMADA N., ISEKI T., KEEHN R.  
Cytogenetics investigation of survivors of the atomic bombing of Hiroshima and Nagasaki.  
Lancet 2, 672-674, 1966.
- (10) BOVERI T.  
Zur frage der entstchung maligner tumoren  
Fisher, Jena ; in Theodor BOVERI and his book par Ulrich WOLF in Chromosomes and cancer.  
James GERMAN editor (1974).
- (11) CARPENTIER S., DUTRILLAUX B., LEJEUNE J.  
Effet du milieu ionique sur la dénaturation thermique ménagée des chromosomes humains.  
Ann. Génét., 15, 203, (1972).
- (12) CASINI C., SCORRETI G., TORLONIA G., UCCELATORE F.  
La citogenetica dei versamenti neoplastici.  
Minerva Ginec. 27/6, 472-482 (1975).
- (13) CASPERSON T., GAHRTON G., LINDSTEN J., ZECH L.  
Identification of the Philadelphia chromosome as a number 22 by quinacrine mustard.  
Exp. Cell. Resp. 63, 238-240 (1970).
- ( 14) CASPERSON T., ZECH L., JOHANSSON C.  
Analysis of human metaphase chromosomes set by aid of DNA-hinding fluorescent agents.  
Exp. Cell. Resp., 62, 490 (1970 b).
- (15) COUTINHO V., BOTTURA C.  
Karyotype analysis of cells in malignant and non malignant effusions.  
Caryologia Vol. 28 n° 3 345-358 (1975).
- (16) DENVER  
Classification - Proposition d'un système standard de nomenclature des chromosomes mitotiques humains.  
Ann. Génét., 1960, I, 35.



- (17) DEWALD G., DINES D.E., WEILAND L.H., GORDON H.  
Usefulness of chromosomes examination in the diagnosis of malignant pleural effusions.  
The new England Journal of Medicine, 1976, 1494-1500.
- (18) DUTRILLAUX B., GROUCHY J. de, FINAZ C., LEJEUNE J.  
Mise en évidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique (pronase en particulier).  
C.R. Acad. Sci. (Paris), 273-587 (1971 b).
- (19) DUTRILLAUX B.  
Nouveau système de marquage chromosomique : les bandes T.  
Chromosoma (Berl.), 41, 395 (1973 a)
- (20) DUTRILLAUX B., LAURENT C., COUTURIER J., LEJEUNE J.  
Coloration par l'acridine orange de chromosomes préalablement traités par le 5 bromodeoxyuridine (BUDR)  
C.R. Acad. Sci. (Paris), 273-587 (1973 a)
- (21) DUTRILLAUX B.  
Sur la nature et l'origine des chromosomes humains.  
Monographies des annales de génétique (1975).
- (22) EVANS H.J.  
Effects of ionizing radiation on mammalian chromosomes in Chromosomes and Cancer. James German Editor (1974).
- (23) FRAISSE J., MONTARRY M., BERARD J., BRIZARD C.P.  
Notes préliminaires sur l'étude cytogénétique des épanchements pleuraux.  
Revue de tuberculose et de pneumologie, 36, n° 6, 997-1002 (1972).
- (24) FRAISSE J., FRAISSE H.  
Apports de la cytogénétique à l'étude des liquides d'ascite.  
J.M.L., 1972, 227-233.
- (25) FRAISSE J., FRAISSE H.  
Intérêt du caryotype des cellules du liquide d'épanchement dans la détection des ascites n'oplasiques (à propos d'une statistique de 47 cas).  
Lyon Médical, 229, 9, 875-881 (1973).



- (26) FRAISSE J., FRAISSE H.  
Diagnosis of malignancy by cytogenetics means.  
5<sup>th</sup> Pan american cancer cytology congress : Salsbourg 1973.
- (27) FRAISSE J., FRAISSE H.  
Etude cytogénétique d'une ascite néoplasique avant et après traitement  
chimiothérapique.  
Lyon Médical, 233, 3, 223-226 (1975).
- (28) GERMAIN D., TANZER J., PHILIPPE N.  
Etude du caryotype en hématologie  
E.M.C. 13000 K 10 3-13 (1977).
- (29) GERMAIN D., REQUIN C., PHILIPPE N.  
Les affections génétiques à haut risque leucémique.  
J.L.M., 53, 1071-1077 (1972).
- (30) GOODLIN R.C.  
Utilisation of cell chromosome number for diagnosing cancer in effusion.  
Nature (Lond.), 197, 507 (1963).
- (31) GRANT C.J., HESLOT H.  
Remaniements chromosomiques induits par les nitrosamines chez "Vicia Faba"  
et leur relation avec le cycle mitotique.  
Ann. Genet., 8, n° 2, 98 (1965).
- (32) GROUCHY J. de  
Aberrations chromosomiques et processus malins. La notion de continuum  
entre l'état normal et la mort.  
Ann. Genet., 9, n° 2, 55 (1966).
- (33) GROUCHY J. de, NAVA C. de  
Effets cytogénétiques de la Rubidomycine (au Daunomycine)  
Ann. Genet., II, n° 1, 39 (1968).
- (34) GROUCHY J. de, TURLEAU C.  
Clonal evolution in myeloïd leukemia  
in Chromosomes and cancer - James German editor (1974).



- (35) HANSEN-MELANDER E., KULLANDER S., MELLANDER Y.  
Chromosomes analysis of a human ovarian cystocarcinoma in the ascite form.  
J. Mat., Cancer Inst., 16 1067-1081 (1956).
- (36) HANSSON A., KORSGAARD R.  
Cytogenitital diagnosis of malignant pleural effusions.  
Scand. J. resp. Dis. 55,301-308 - 1974.
- (37) HARNDEN D.G.  
Specificity of acquired chromosome damage in man.  
Proceding of the fourth international congress of human genetics.  
Paris 1971.
- (38) HARNØEN D.G.  
Viruses chromosomes and tumours - the interactions between viruses and  
chromosomes in chromosomes and cancer.  
James German editor (1974).
- (39) ISHIHARA T., MAKINO S.J.  
Chromosomal conditions in some human subjects with non malignant disease.  
Texas Repts Biol. Med., 18, 427-437 (1960).
- (40) ISHIHARA T., SANDBERG A.A.  
Chromosome constitution of diploïd and pseudo diploïd cells in effusions  
of cancer patients.  
Cancer, 16, 885-895 (1963).
- (41) ISHIHARA T., KIKUCHI Y., SANDBERG A.A.  
Chromosomes of twenty cancer effusions - correlation of karyotype clinical  
and pathologic aspects.  
J. Nat. Cancer Inst., 30, 1303-1361 (1963).
- (42) ISHIMARU T., HOSHINO T., ISHIMARU M., OKADA H., TOMIYASU T.  
Leukemia in atomic lomb survivors, Hiroshima and Magasaki.  
1 October 1950 - 30 September 1966  
Radiat. Res., 45, 216-233 (1971).



- (43) ISING U., LEVAN A.  
The chromosomes of two highly malignant human tumours.  
Acta pathol. et microbiol. Scand. 40, 13-24 (1957).
- (44) JACOB C.F.  
Diagnosis of malignancy by chromosomes counts.  
Lancet, 2, 724 (1961).
- (45) KOHN G., MELLMAN W.J., MOORHEAD P.S., LOFTUS J., HENLE G.  
Involvement of C - group chromosomes in five Burkitt lymphoma cell lines.  
J. Nat. Cancer Inst., 38, 209-222 (1967).
- (46) KOLLER P.C.  
Cytological variability in human carcinomatosis.  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 63, 793-817 (1956).
- (47) LEGRAND E.  
Etude cytogénétique de neuf épanchements néoplasiques.  
Thèse doctorat médecine - Fondation Bergonié de Bordeaux (1968).
- (48) LEGRAND M., PARIENTE R.  
Application de la microscopie électronique au diagnostic des tumeurs de la plèvre I.  
Etude des biopsies pleurales.  
Nouv. Presse Méd., 1975, 4, 2106-2107.
- (49) LEJEUNE J., BERGER R.  
Sur une méthode de recherche d'un variant commun des tumeurs de l'ovaire.  
C.R. Acad. Sci. (Paris), 262, 1885-1887 (1966).
- (50) LEVAN A.  
Chromosomes in cancer tissue.  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 63, 774-789 (1956).
- (51) MALONOV G., MALONOVA J.  
Marker band in one chromosome 14 from Burkitt's lymphomas.  
Nature, 237, 33-34 (1972).



- (52) MARQUET M.  
Les mésothéliomes pleuraux. A propos de 35 cas.  
Synthèse clinique, rôle de l'amiante.  
Thèse doctorat en médecine LYON 1974.
- (53) Mc DOUGALL J.K.  
Effects of adenovirus on the chromosome of normal human cells and cells trisomic for an E chromosome.  
Nature (London), 225, 456-458 (1970).
- (54) Mc DOUGALL J.K.  
Adenovirus induced chromosome aberrations in human cells.  
J. Gen. Virol., 12, 43-51 (1971 b).
- (55) MESSINETTI S., ZELLI G.P., MARCELLINO L.R., ALCINI E.  
L'analisi cromosmica nella citodiagnostica dei versamenti pleurici da neoplasie maligne endothoraciche.  
Arch. Chir. Torac. Cardiovasc. 1, 35, 1969.
- (56) MILES C.P., WOLINSKA W.  
A comparative analysis of chromosomes and diagnostic cytology in effusions from 58 cancer patients.  
Cancer 32-1458-1468 1973.
- (57) MONTARRY M.  
A propos de cent épanchements pleuraux d'étiologie variée - apports de la cytogénétique au diagnostic de malignité.  
Thèse doctorat médecine LYON 1973.
- (58) MOORHEAD P.S., SARSELA E.  
Non random chromosomal aberrations - SV40 transformed human cells.  
J. Cell. Comp. Physiol. 62, 57-84 (1963).
- (59) MOREL P., PORTELLI B., BRUNE J., GALY P.  
Apports de la cytologie dans le diagnostic des épanchements pleuraux malins.  
Lyon Médical 231, 4, 307-313 (1974).



- (60) MOURIQUAND J., PETITPAS E., AUGUSSEAU S.  
Les cultures de cellules d'épanchements pleuraux confrontation cytoclinique  
a propos de 100 cas.  
Lyon Méd. (1974 ) 233, 4, 353-360.
- (61) MOURIQUAND C., GILLY C., WOLF C., PATET J.  
Etude in vitro de l'effet du rayonnement sur les chromosomes humains.  
Int. J. Radiat. Biol. 19, 263 (1971).
- (62) NOWELL P.C., HUNGERFORD D.A.  
A minute chromosome in human granulocytic leukemia.  
Science, 132, 1497 (1960).
- (63) OKSALA T., THERMAN E.  
Mitotic abnormalities and cancer.  
In chromosomes and cancer James German editor (1974).
- (64) PARIS Conférence de 1971.  
Standardization in human cytogenetics.  
Birth defects : original article series, vol. 8, n° 7.  
Editor: the national foundation New-York.
- (66) PEILLON S.  
Apport des techniques de cytogénétique au diagnostic des ascites malignes  
(Statistique portant sur l'examen de 348 épanchements ascitiques).  
Thèse doctorat médecine LYON 1977.
- (67) PESCE R., VINCRE G., TRIVELLINI G.  
Doppio clono in cellule di versamento pleurico da metastasi di microci-  
toma del pomone.  
Boll. ist. sicoter Milan (1975) 54,1 57-63.



(68) QUINONES M.G. et al.

Comparison between the cytogenetic technique and the papanicolaou in the diagnosis of malignancy in pleural effusion.

Rev. invest. Clin. 28 (1) : 15-9 janv.-Mars 76.

(69) ROWLEY J.D.

A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining.

Nature (Lond.) 243, 290-293 (1973).

(70) SANDBERG A.A., YAMADA K., KIRUGHI Y., TAKAGI N.

Chromosomes and causation of human cancer and leukaemia

III - karyotypes of cancer effusions.

Cancer, 20, 1099-1123 (1967).

(71) SUMMER A.T., EVANS H.J., BUCKLAND R.A.

A new technique for distinguishing between human chromosomes.

Nature (New. Biol.) 232, 31 (1971).

(72) TIEPOLO L., ZUFFARDI O.

Identification of normal and abnormal chromosomes in tumor cells.

Cytogenet Cell Genet. 12, 8-16 (1973).

(73) TJIO J.H., LEVAN H.

The chromosome number of man.

Hereditas (Lond.), 42, 1 (1956).

(74) TOURON P.

Valeur du dosage de l'acide hyaluronique par une méthode turbidimétrique dans 103 liquides pleuraux d'étiologie diverses.

Thèse doctorat médecine LYON 1977.

(75) VAN DEN BERGHE M.D.

The Ph<sub>1</sub> chromosome translocation to chromosome 9.

Lancet, II, 1030-1031 (1973).

(76) ZUR HAUSEN H.

Virus-cell genome interactions. I. Induction of specific chromosomal aberrations by adenovirus type 12 in human embryonic kidney cells.

J. Virol., I, 1174-1185 (1967).



I. C. VAUBECOUR  
*l'Imprimerie des étudiants lyonnais*  
11 et 13 Rue Vaubecour  
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85





I. C. VAUBECOUR  
*l'imprimerie des étudiants lyonnais*  
11 et 13 Rue Vaubecour  
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85